



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA**

---

**ESTANDARIZACIÓN DEL ESTUDIO DEL HUESO NASAL FETAL POR  
ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO EN FETOS EN EL PRIMER Y SEGUNDO  
TRIMESTRE DE GESTACIÓN. CLÍNICA COLOMBIA, COLSANITAS EN EL AÑO  
2014**

**LUIS ALBERTO VELOZA CABRERA**

**Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Medicina, Departamento de Patología  
Bogotá D.C, Colombia  
2015**

**ESTANDARIZACIÓN DEL ESTUDIO DEL HUESO NASAL FETAL POR  
ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO EN FETOS EN EL PRIMER Y SEGUNDO  
TRIMESTRE DE GESTACIÓN. CLÍNICA COLOMBIA, COLSANITAS EN EL AÑO  
2014**

**Trabajo de grado para optar al título de Patólogo clínico y anatómico**

**DIRIGIDO POR:**

**Dra. EDNA MARGARITA QUINTERO CANASTO**

**Dra. LINA EUGENIA JARAMILLO BARBERI**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA, SEDE BOGOTÁ  
FACULTAD DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA  
BOGOTÁ D.C. 2015**

## Resumen

**Introducción:** si bien la ausencia del hueso nasal es uno de los marcadores ecográficos más importantes para aneuploidías, hay pocos estudios fetales sobre su desarrollo y sus mediciones antropométricas, por lo que no se han determinado los estándares de la longitud del hueso nasal normal por histopatología y no está estandarizado su estudio anatomopatológico. **Objetivo:** el objetivo del presente estudio es estandarizar de la evaluación histopatológica del hueso nasal. **Métodos:** los fetos fueron clasificados como normales y anormales. La evaluación histopatológica del hueso nasal se llevó a cabo mediante disección de la piel facial para visualizar el hueso nasal, con toma de sus medidas, características externas y el estudio microscópico mediante cortes parasagitales. **Resultados:** un total de 40 fetos fueron estudiados. Dentro del grupo de fetos normales, a lo largo del embarazo los huesos cambiaron morfológicamente y aumentaron las medidas de sus bordes medial y lateral de forma lineal con la edad gestacional y longitud plantar. En general, la media de las longitudes lateral y medial del hueso nasal fue menor comparada con la de los estudios ecográficos 2D y un estudio antropológico, sin embargo, la longitud nasal medial fue parecida al de un estudio ecográfico 3D reciente. En algunos fetos anormales la valoración histopatológica reveló desviaciones comparada a los fetos normales. **Conclusiones:** La estandarización del estudio histopatológico del hueso nasal fetal es posible. La evaluación histopatológica del hueso nasal aporta información sobre el crecimiento fetal por lo que permitiría identificar casos aneuploides con cariotipo desconocido o con malformaciones fetales.

**Palabras clave:** hueso nasal, feto, patología, ecografía, trisomía 21

## Abstract

**Background:** although the absence of nasal bones is one of the most important sonographic markers of aneuploidies, there are few studies on the development of the nasal bones and their morphological measurements, therefore the standards for normal nasal bone length by histopathological analysis have not been established and its pathological analysis has not been standardized. **Objective:** the aim of this study was to standardize the histopathological evaluation of fetal nasal bone. **Methods:** the cases were classified as “normal” and “abnormal”. The histopathological evaluation of nasal bones was carried out through dissection of the facial skin to observe the nasal bones, taking their measurements, describing their external features and the microscopic study of tissue blocks through parasagittal cuts. **Results:** forty cases were studied. Among the group of normal cases, as pregnancy progresses nasal bones changed their morphology and increased the medial y lateral border measurements in a linear fashion with increasing gestational age and foot length. Overall, the mean of the medial y lateral border measurements was lower compared to those in the other 2D sonographic

studies and in an anthropological study. On the other hand, the medial border measurement was similar compared to those in a recent 3D sonographic study. In some abnormal cases the histopathological study results deviated from those in the normal cases. **Conclusions:** the standardization for the histopathological study of the fetal nasal bone is possible. The histopathological evaluation of the nasal bone gives information about fetal growth therefore it would allow to identify cases with fetal aneuploidies with unknown karyotype or with fetal malformations.

**Key words:** nasal bone, fetus, pathology, sonography, trisomy 21

## TABLA DE CONTENIDO

1. Marco de referencia .....	6
2. Estado del arte .....	8
3. Planteamiento del problema y Justificación.....	21
4. Pregunta de investigación .....	22
5. Objetivos .....	22
5.1. Objetivo general .....	22
5.2. Objetivos específicos .....	22
6. Métodos.....	23
6.1. Tipo de diseño: Estudio descriptivo prospectivo .....	23
6.2. Población de estudio.....	23
6.3. Marco muestral.....	23
6.4. Guía paso a paso del estudio.....	23
6.5. Variables principales a medir.....	26
6.6. Proceso de recolección y sistematización de la información .....	27
6.7. Plan de análisis de la información.....	27
6.7.2. Estrategias para control de sesgos y variables de confusión.....	28
7. Resultados.....	28
8. Discusión.....	45
9. Conclusiones.....	51
10. Bibliografía.....	52

## **1. Marco de referencia**

Las aneuploidías son una de las principales causas de morbilidad perinatal, por lo que la detección de alteraciones cromosómicas constituye la indicación más frecuente de diagnóstico prenatal invasivo y mínimamente invasivo (ADN celular libre fetal), sin embargo, los métodos actuales de diagnóstico prenatal invasivo, la biopsia de vellosidades coriónicas y la amniocentesis aún son los más empleados actualmente y están asociadas con un riesgo de aborto de alrededor del 1% y por lo tanto estas pruebas sólo son llevadas a cabo en embarazos de alto riesgo para aneuploidías (1).

Los métodos de tamizaje proveen una opción para aquellas mujeres que desearían determinar el riesgo de aneuploidía en su embarazo actual, antes de decidir si o no llevar a cabo un test invasivo. El método de tamizaje ecográfico se basa en el hecho de que los fetos con alteraciones cromosómicas se diferencian fenotípicamente de aquellos fetos euploides y que muchas de estas diferencias pueden ser detectadas por la ecografía prenatal (2).

Muchos estudios en los últimos años han demostrado que el marcador ecográfico más eficiente para la detección de trisomía 21 es la “translucencia nuchal (TN) aumentada” durante las semanas 11-14 de gestación (1).

La ausencia o hipoplasia del hueso nasal es el segundo marcador ecográfico más importante en el tamizaje ecográfico de la semana 11- 14. Según el estudio de Cicero y colaboradores, en el año 2001 se encontró un hueso nasal ausente mediante el estudio ecográfico de las semanas 11-14 en el 73% de los casos con trisomía 21 y sólo en el 0,5% de los fetos cromosómicamente normales con una razón de riesgo positiva de 146 (95% IC, 0,18- 0,40) para el hueso nasal ausente (3). Como la ausencia de hueso nasal no está relacionada a la medida de la TN puede ser combinada dentro de una sola test de tamizaje, incrementando la tasa de detección, con una sensibilidad de 85% y una tasa de falsos positivos de un 1% (4).

Sin embargo, si bien diversos estudios han reportado excelente variabilidad intraobservador de la medida del hueso nasal fetal en las semanas 11-14 de gestación (5, 6), en relación con la variabilidad interobservador se han obtenido resultados discordantes entre los diferentes estudios, en un estudio de Bekker y colaboradores, en el año 2004 se evaluó la reproducibilidad de la medida del hueso nasal en 90 embarazos entre las semanas 11-14 de gestación encontrándose una correlación interobservador pobre de 0,32 con una mejora después de entrenamiento adecuado a una correlación interobservador moderada

de 0,64 (7), por otro lado, en un estudio reciente de Suwanrath y colaboradores, en el año 2013, la variabilidad interobservador entre diferentes pares de examinadores varió de moderado a excelente (ICC, 0,467-0,962) (5).

La variabilidad interobservador esta principalmente relacionada al entrenamiento y estandarización de la técnica de medida del hueso nasal, además de factores biológicos y a la variación e interacción entre los examinadores, las gestantes y la imagen ecográfica (5,8).

Además de los casos de trisomía 21, se ha reportado un hueso nasal ausente hasta en el 53% y 45% de los casos de fetos con trisomía 18 y 13 respectivamente, en comparación del 2,6% de los fetos euploides y también en el muchas otras entidades (9)

Considerando que actualmente los productos de terminaciones voluntarias con diagnóstico confirmado de aneuploidía incluyendo trisomía 21 que se reciben en los servicios de anatomía patológica la edad gestacional es menor, en quienes la evaluación de las características fenotípicas (incluyendo las faciales) son cada vez difíciles de valorar y correlacionar con los hallazgos ecográficos, el objetivo en nuestro estudio realizado previamente fue describir los hallazgos histopatológicos de fetos con diagnóstico confirmado de aneuploidía en la Clínica Colsanitas entre los años 2008 – 2013 y correlacionarlos con los hallazgos ecográficos de las semanas 11-14. En este estudio, la media de la edad gestacional al momento de la ecografía y el estudio histopatológico de la autopsia fue la menor de todos los estudios disponibles hasta la fecha que realizan la descripción de los hallazgos ecográficos y patológicos de fetos con malformaciones, productos de terminaciones voluntarias del embarazo.

Entre los resultados de nuestro estudio anterior (datos no publicados), dentro de los 20 casos con trisomía 21 con una media de edad gestacional al momento del estudio histopatológico de 17 semanas (rango 11-32 semanas), 5 casos (25%) presentaron hueso nasal ausente (4 casos en la ecografía de la semana 11-14 y 1 caso en la del segundo trimestre) con una media de edad gestacional al momento del estudio histopatológico de 16,4 semanas (rango 12-22 semanas) mientras que los 15 casos restantes (75%) presentaron hueso nasal en los estudios ecográficos con un media de edad gestacional al momento del estudio histopatológico de 18 semanas (rango: 12 – 32 semanas) y al comparar la valoración ecográfica de hueso nasal ausente y la descripción histopatológica macroscópica del “puente nasal o dorso nasal deprimido o plano”, hubo una concordancia sólo del 25%, sin embargo, en este estudio no se llevó a cabo el estudio microscópico del hueso nasal fetal y únicamente se consideró la valoración subjetiva de la apariencia macroscópica del dorso nasal, igualmente, la medida macroscópica del hueso

nasal fetal no ha sido estandarizada para el anatomopatólogo, y considerando además que la terminología usada para reportar el hueso nasal fetal por ecografía varía de acuerdo a la Institución y no en todos los centros consideran la medida del hueso nasal dentro del tamizaje ecográfico de la semana 11- 14 sino únicamente su presencia o ausencia (en algunos hipoplasia), no haciendo posible realizar una comparación de la valoración histopatológica del hueso nasal fetal con la medida del hueso nasal fetal por ecografía.

## **2. Estado del arte**

### **2.1. Desarrollo embriológico facial**

El primordio facial aparece temprano en la 4 semana de gestación alrededor del gran estomodeo primordial como 5 procesos o prominencias mesenquimales: 2 prominencias mandibulares (derecha e izquierda, derivadas del mesénquima del primer par de arcos faríngeos), 2 prominencias maxilares (derecha e izquierda, derivadas del mesénquima del primer par de arcos faríngeos) y 1 prominencia frontonasal (PFN) (estructura de la línea media, del mesénquima de la cresta neural craneal). Las prominencias son producidas principalmente por la expansión de poblaciones de células de la cresta neural que se originan de los pliegues neurales rombencefálicos rostral y mesencefálico durante la 4 semana. Estas células son la principal fuente de componentes del tejido conectivo incluyendo cartílago, hueso y ligamentos en las regiones facial y oral (10) (11).

La PFN rodea la parte ventrolateral del cerebro anterior, la cual origina las vesículas ópticas que forman los ojos. La parte frontal de la PFN forma la frente; la parte nasal del PNF forma el límite rostral del estomodeo y la nariz. Las prominencias maxilares forman los límites laterales del estomodeo y las prominencias mandibulares forman el límite caudal del estomodeo (11).

Las 5 prominencias faciales son centros activos de crecimiento en el mesénquima subyacente. Este tejido conectivo embrionario es continuo de una prominencia a otra. El desarrollo facial ocurre principalmente entre las 4-8 semanas. Hacia el final del periodo embrionario, la cara tiene una incuestionable apariencia humana. Las proporciones faciales se desarrollan durante el periodo fetal. La mandíbula inferior y el labio inferior son las primeras partes de cara que se forman. Ellos resultan de la fusión de los extremos mediales de las prominencias mandibulares en el plano medio (11).

Hacia el final de la 4 semana de gestación las células de la cresta neural sobre las partes inferolaterales del PFN proliferan formando las placodas nasales. A la sexta



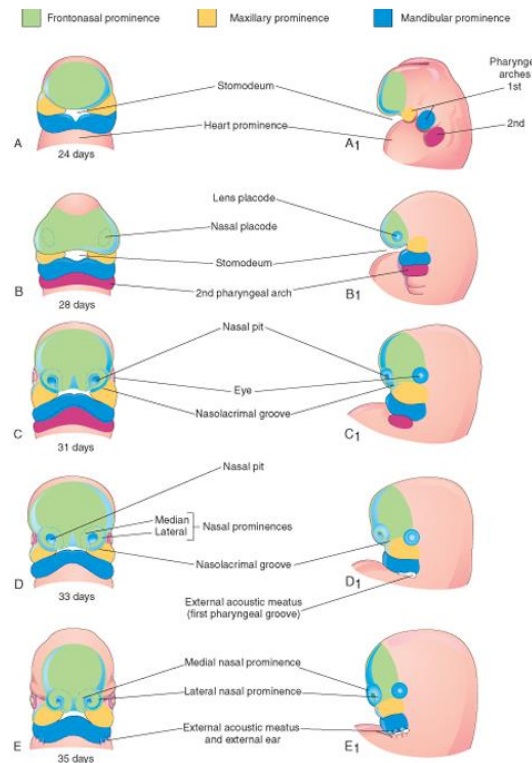
semana, las placodas nasales se invaginan para formar las fosas nasales y los procesos nasales mediales y laterales (2, 11).

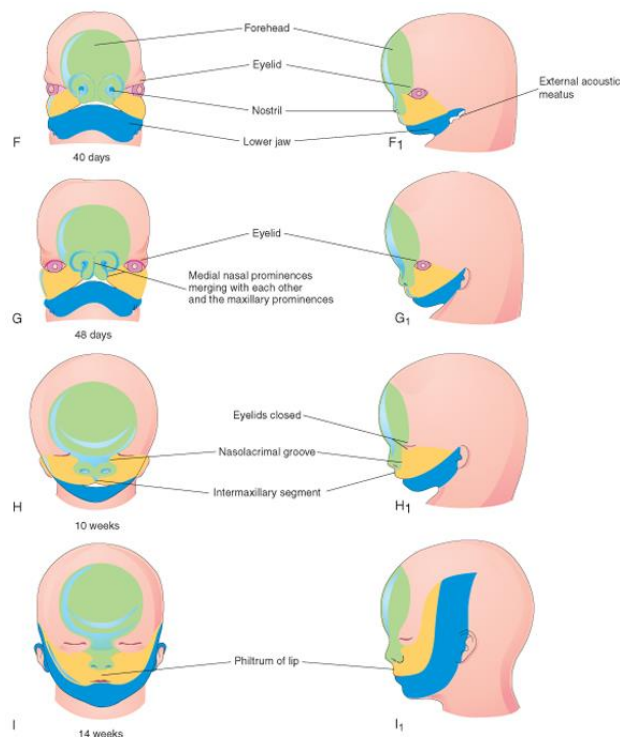
La proliferación del mesénquima en las prominencias maxilares causa que ellas crezcan medialmente hacia la prominencia contralateral y hacia las prominencias nasales, lo que resulta en el movimiento de las prominencias nasales mediales hacia el plano medio y hacia la prominencia nasal media opuesta. Cada prominencia nasal lateral está separada de la prominencia maxilar por una hendidura llamada surco nasolacrimal (11).

Hacia el final de la 6 semana, cada proceso maxilar ha iniciado a fusionarse con la prominencia nasal lateral a lo largo de la línea del surco nasolacrimal (11).

Entre las semanas 7-10 de gestación, las prominencias nasales mediales se fusionan entre ellas y con las prominencias nasales laterales y maxilares. La fusión de estas prominencias requiere la desintegración de su epitelio de superficie de contacto. Esto resulta en la mezcla de las células mesenquimales subyacentes. La fusión de las prominencias maxilares y nasales mediales y laterales resulta en la continuidad del maxilar superior y el labio y separación de las fosas nasales del estomodeo. A medida de las prominencias nasales mediales se fusionan, ellas forman un segmento intermaxilar, el cual da origen al philtrum, la parte premaxilar del maxilar y su encía asociada, y el paladar primario (11).

Los procesos nasales mediales se fusionan con la prominencia frontal para formar el septum nasal, el cual a la vez crece hacia el paladar en formación definiendo las cavidades nasales derecha e izquierda. El disco cartilaginoso de la nariz se está desarrollando en ese mismo tiempo (2).





Tomado de: The Developing Human: Clinically Oriented Embryology. Keith L. Moore, T. V. N. Persaud, Mark G. Torchia. 8 edición. Saunders/Elsevier, 2008, 522 páginas.

## 2.2. Osificación y desarrollo de los huesos nasales

Durante la 8 semana, centros iniciales de osificación de los huesos nasales aparecen en la membrana que cubre la capsula nasal cartilaginosa (2, 12). Los huesos nasales son visibles por primera vez histológicamente entre las semanas 9 – 10 de gestación y por radiografía un poco después. La mayoría describen un solo centro de osificación para cada hueso nasal, sin embargo unos reportes informan un segundo centro endocondral medial. A causa de su extrema fragilidad, el hueso nasal fetal probablemente no es identificado de forma aislada antes del tercer trimestre de la vida fetal. Este puede ser reconocido por su forma morfológica del adulto, pero difiere en tamaño y proporciones generales. Una obvia superficie articular sobre el borde medial para el hueso correspondiente no se desarrolla hasta tardíamente en la vida fetal (13, 14)

## 2.3. Estudios de la medida del hueso nasal fetal en poblaciones “normales”

### 2.3.1. Estudio antropológico

En un estudio antropológico llevado a cabo por Fazekas y Kosa en 1978 se midió la longitud y el ancho del hueso seco a lo largo de la vida fetal a partir de la

semana 16 en 136 restos fetales masculinos y femeninos en Hungría y se estimó la edad gestacional basada en la longitud corona-talón. Este estudio mostró un crecimiento lineal del hueso nasal con la edad gestacional, sin embargo este estudio se basó en fetos naturalmente abortados por lo que no consideró la presencia o no de malformaciones congénitas o aneuploidías en dicha población de estudio (2,13):

## Metrics

### Fazekas and Kósa

Dry Bone Fetal Measurements-Nasal bone (mm)					
Prenatal Age (wks)	n	Length		Width	
		Mean	Range	Mean	Range
16	8	4.5	4.0-4.6	2.5	2.2-2.6
18	15	5.1	4.8-5.5	3.0	2.7-3.3
20	13	5.9	5.5-6.2	3.3	2.6-3.8
22	11	6.1	5.0-7.0	3.9	3.0-4.5
24	12	6.8	6.5-7.2	4.0	3.7-4.8
26	12	7.3	7.0-7.8	4.2	3.5-4.5
28	12	7.9	7.0-8.5	4.2	3.5-4.8
30	12	8.6	8.2-9.2	4.3	3.2-4.9
32	8	9.6	8.5-10.0	5.2	4.5-5.6
34	7	10.6	10.0-11.0	5.3	5.0-5.5
36	5	11.6	11.0-12.0	5.9	5.6-6.2
38	7	11.8	11.0-12.0	6.6	6.0-7.0
40	10	12.3	11.8-13.0	7.4	6.2-8.0

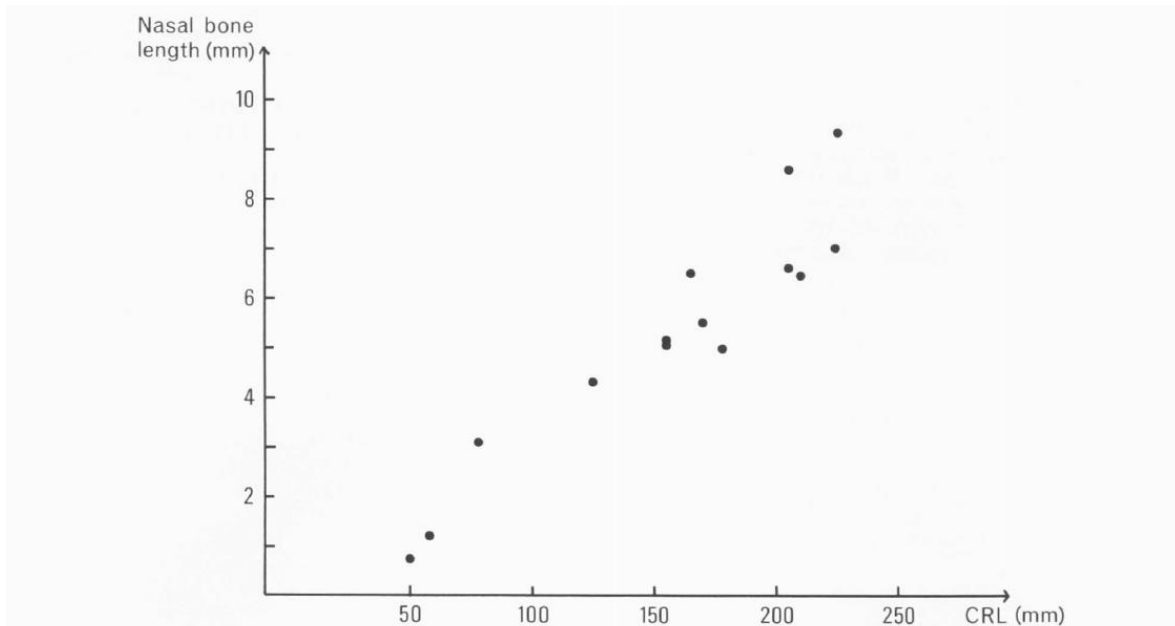
Tomado de: **Developmental Juvenile Osteology**, Maureen Schaefer, Louise Scheuer, Sue Black, Elsevier, 2009, 369 páginas (15).

### 2.3.2. Estudio radiológicos

Sandikcioglu y colaboradores en 1994 reportaron las longitudes del hueso nasal fetal desde 3 a 7 meses de gestación en 62 fetos normales en radiografías laterales (según la técnica descrita por Kjaer), de bloques de tejido mediosagitales de la base del cráneo y el complejo maxilar obtenidos después de la remoción de la calota y el cerebro, las radiografías laterales de estos bloques de tejidos mediosagitales mostraron el tejido óseo sin la superposición de las estructuras de la base del cráneo. El crecimiento del hueso nasal fue medido cefalométricamente en la cara lateral (16).

Este estudio mostró que los huesos nasales derecho e izquierdo aparecen como un delgado contorno óseo ventral al septum nasal cartilaginoso en el plano sagital y cambia gradualmente durante el crecimiento a huesos en forma de cuña. La

aparición inicial de los huesos nasales ocurrió a diferentes estadios del desarrollo en fetos normales. La aparición inicial dentro de la cual los huesos nasales se identifican por primera vez varía dentro de los fetos normales, La longitud corionocoxis más pequeña en la cual los huesos nasales fueron observados histológicamente por primera fue de 42mm correspondiendo aproximadamente a 10,9 semanas de gestación. Más aún, los huesos nasales fueron notados que incrementaban su longitud con el avance de la gestación y su morfología cambia, siendo en general más anchos y volviéndose a un punto agudo en el extremo anterior en los especímenes más maduros (16).



*Fig. 13.* Growth of the nasal bone measured between the most anterior and the most posterior contours of the bone in the human fetal midsagittal segment related to CRL. Growth increment is linear.

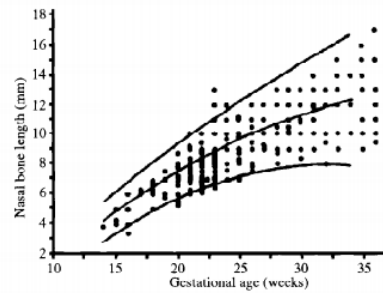
Tomado de: Sandikcioglu M, Mølsted K, Kjaer I. The prenatal development of the human nasal and vomeral bones. *J Craniofac Genet Dev Biol.* 1994;14(2):124-34.

### 2.3.3. Estudios ecográficos

Guis y colaboradores en el año 1995 publicaron los rangos de referencias para las longitudes de los huesos nasales fetales medidos en un perfil sagital medio basado en 376 casos entre las 14 y 34 semanas de gestación (media de 24 semanas), excluyendo población afroamericana u asiática; ellos encontraron que la longitud de los huesos nasales se incrementa de 4mm a la semana 14 a 12mm las 35 semanas de gestación y que hubo una relación lineal entre la longitud de estos huesos y el diámetro biparietal y longitud del fémur (17)

**Table 1** Mean, standard deviation (SD), mean + 2 SD and mean - 2 SD for length of the nasal bones (mm) throughout gestation

Gestation (weeks)	Mean	Standard deviation	Mean - 2 SD	Mean + 2 SD
14	4.183	0.431	3.321	5.045
16	5.213	1.062	3.089	7.337
18	6.308	0.654	5.000	7.616
20	7.621	0.953	5.715	9.527
22	8.239	1.102	6.035	10.443
24	9.362	1.300	6.762	11.962
26	9.744	1.277	7.190	12.298
28	10.721	1.459	7.803	13.639
30	11.348	1.513	8.322	14.374
32	11.580	1.795	7.990	15.170
34	12.285	2.372	7.541	17.029

**Figure 2** Distribution of length of nasal bones with gestation (mean, 5th and 95th centiles)

**Tomado de:** Guis F, Ville Y, Vincent Y, Doumerc S, Pons JC, Frydman R. Ultrasound evaluation of the length of the fetal nasal bones through gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995; 5: 304–7

En un estudio publicado en el año 2008 por Cossi y colaboradores, estableció valores de referencia para las medidas de longitudes del hueso nasal fetal entre las 11-15 semanas gestacionales en una población brasileña en 171 embarazos, establecieron que la longitud del hueso nasal estuvo fuertemente correlacionada con los otros parámetros antropométricos ( $p < 0,001$ ) y con la edad gestacional ( $R^2 = 0,59$ ) con una longitud del hueso nasal media como una función de la edad gestacional entre 1,69mm y 2,94mm (18)

**Table 1** Descriptive measurements of the fetal nasal bone according to the gestational age.

Gestational age	n	Mean (mm)	Standard deviation (mm)
11 weeks—11 weeks and 6 days	49	1.69	0.26
12 weeks—12 weeks and 6 days	50	2.11	0.37
13 weeks—13 weeks and 6 days	41	2.34	0.39
14 weeks—14 weeks and 6 days	31	2.94	0.48

n, number of pregnant women.

**Table 3** Reference values for nasal bone length.

Gestational age	Fetuses (n)	Percentiles (mm)				
		2.5%	5%	50%	95%	97.5%
11 weeks	49	1.0	1.1	1.6	2.0	2.1
12 weeks	50	1.3	1.4	2.0	2.5	2.6
13 weeks	41	1.6	1.7	2.4	3.0	3.2
14 weeks	31	1.8	2.0	2.8	3.5	3.7

**Tomado de:** Cossi PS, Araujo Júnior E, Bussamra LC, Antonio H. Filho G, Marcondes L, Nardozza M, Moron AF. Measurement of fetal nasal bone length in the period between 11 and 15 gestational weeks in a Brazilian population: a preliminary study. *Radiol Bras* [online]. 2008, vol.41, n.3, pp. 155-158

Entre los diversos estudios ecográficos de dos dimensiones (2D), Sonek y colaboradores, en el año 2003 midieron la longitud nasal fetal en 3537 fetos entre 11-40 semanas de gestación usando una técnica ecográfica estándar, ellos de igual forma encontraron que las longitudes de los huesos nasales se correlacionaban positivamente con la edad gestacional con los rangos de normalidad incrementándose con la gestación (de 2,1 a 3,6mm desde de las 11-20 semanas, 4,2 a 5,9mm de las 21 a 30 semanas, hasta 7,5mm en el tercer trimestre) y que no había diferencias significativas entre sujetos afroamericanos y caucásicos (19)

Table 1 Normal ranges for nasal bone lengths (in millimeters)  
(n = 3537)

Gestational age (weeks)	Subjects (n)	Percentile				
		2.5%	5%	50%	95%	97.5%
11	16	1.3	1.4	2.3	3.3	3.4
12	54	1.7	1.8	2.8	4.2	4.3
13	59	2.2	2.3	3.1	4.6	4.8
14	82	2.2	2.5	3.8	5.3	5.7
15	103	2.8	3.0	4.3	5.7	6.0
16	134	3.2	3.4	4.7	6.2	6.2
17	203	3.7	4.0	5.3	6.6	6.9
18	252	4.0	4.3	5.7	7.0	7.3
19	388	4.6	5.0	6.3	7.9	8.2
20	440	5.0	5.2	6.7	8.3	8.6
21	322	5.1	5.6	7.1	9.0	9.3
22	208	5.6	5.8	7.5	9.3	10.2
23	157	6.0	6.4	7.9	9.6	9.9
24	121	6.6	6.8	8.3	10.0	10.3
25	123	6.3	6.5	8.5	10.7	10.8
26	96	6.8	7.4	8.9	10.9	11.3
27	80	7.0	7.5	9.2	11.3	11.6
28	103	7.2	7.6	9.8	12.1	13.4
29	95	7.2	7.7	9.8	11.8	12.3
30	104	7.3	7.9	10.0	12.6	13.2
31	92	7.9	8.2	10.4	12.6	13.2
32	66	8.1	8.6	10.5	13.6	13.7
33	54	8.6	8.7	10.8	12.8	13.0
34	41	9.0	9.1	10.9	12.8	13.5
35	37	7.5	8.5	11.0	14.1	15.0
36	40	7.3	7.8	10.8	12.8	13.6
37	36	8.4	8.7	11.4	14.5	15.0
38	13	9.2	9.3	11.7	15.7	16.6
39	12	9.1	9.2	10.9	14.0	14.8
40	6	10.3	10.4	12.1	14.5	14.7

**Tomado de: Sonek JD, McKenna D, Webb D, Croom C, Nicolaides K Nasal bone length throughout gestation: normal ranges based on 3537 fetal ultrasound measurements. UltrasoundObstetGynecol. 2003;21(2):152-5.**

En un estudio del año 2010 por Persico y colaboradores establecieron un rango normal de la longitud del hueso nasal entre las semanas 16-24 de gestación mediante el uso de ecografía tridimensional (3D) e investigaron el efecto de las desviaciones del plano sagital medio exacto sobre la medición, y determinaron que hubo tendencia a subestimar la medida cuando fueron tomadas en planos parasagitales y sobreestimaciones cuando las medidas fueron tomadas en vistas oblicuas en comparación con el plano medio sagital exacto y que esto podría explicar los diferentes valores de referencia obtenidos en los estudios 2D (20)

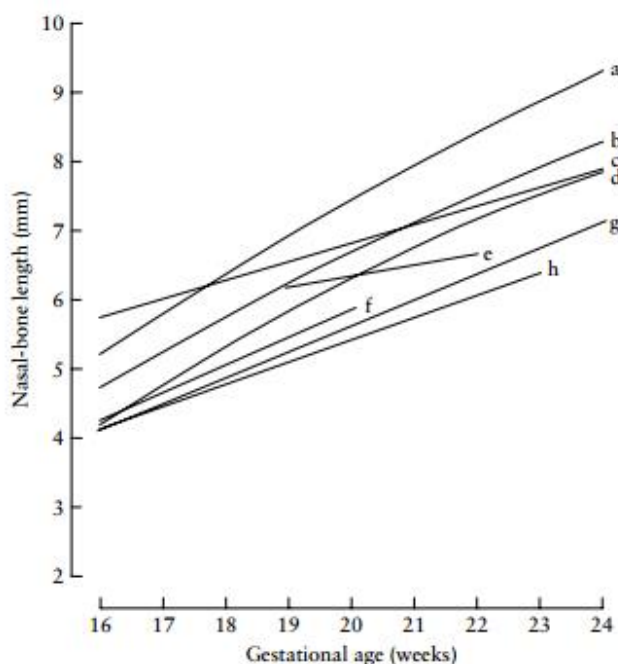


Figure 1 Relationship between mean nasal-bone length and gestational age at 16–24 weeks' gestation in previous two-dimensional ultrasound studies (a<sup>5</sup>, b<sup>6</sup>, c<sup>7</sup>, d<sup>8</sup>, e<sup>9</sup>, f<sup>10</sup> h<sup>11</sup>) and in this study (g).

Tomado de: Persico N, Molina F, Borenstein M, Azumendi G, Nicolaidis KN. Nasal-bone length in euploid fetuses at 16-24 weeks' gestation by three-dimensional ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2010; 36:285-90

## 2.4. Estudios de la medida del hueso nasal fetal en poblaciones con malformaciones o aneuploides

### 2.4.1. Estudios radiológicos

En un estudio radiológico postmortem llevado a cabo por Stempfley colaboradores en el año 1999 se estudió la osificación del hueso nasal en 60 fetos con trisomía 21 en radiografías postmortem, y se comparó con 82 fetos euploides entre 15 a 40 semanas de gestación. Según este estudio, la osificación del hueso nasal está presente desde la semana 15 de gestación en fetos normales, en contraste un 23% de fetos trisómicos no tenía osificación nasal en cualquier tiempo de la gestación. En fetos aneuploides en quienes el hueso nasal fue osificado ellos tendieron ser más cortos que el de los fetos euploides (21).

En un estudio de Hansen y colaboradores en el año 2005, se establecieron estándares para la longitud del hueso nasal fetal en 40 fetos normales en estudios radiológicos postmortem y se compararon las longitudes de los huesos nasales con 26 fetos con paladar y labio hendido. En este estudio las cabezas fetales fueron radiografiadas en una proyección lateral para visualización óptima del hueso nasal, las radiografías fueron repetidas hasta que los craneocontornos osificados bilaterales y los contornos de la mandíbula fueron completamente superpuestos. En este estudio se encontró que en comparación con los estándares normales el grupo de labio hendido aislado tuvo una longitud del hueso nasal significativamente más pequeña que los fetos normales (22).

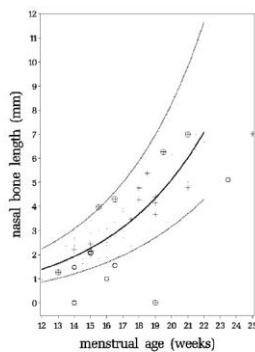


FIGURE 3 Nasal bone length compared to menstrual age (MA). Dots—normal fetuses; curves—normal standard with confidence intervals; open circles—isolated cleft lip fetuses; crosses—isolated cleft palate fetuses; open circles with cross—combined cleft lip and palate fetuses.

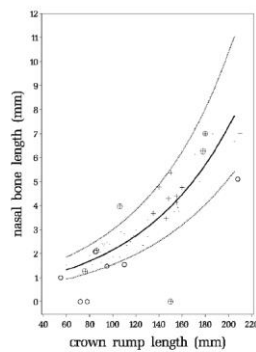


FIGURE 4 Nasal bone length compared to crown-rump length (CRL). Dots—normal fetuses; curves—normal standard with confidence intervals; open circles—isolated cleft lip fetuses; crosses—isolated cleft palate fetuses; open circles with cross—combined cleft lip and palate fetuses.

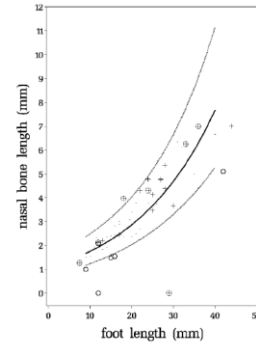
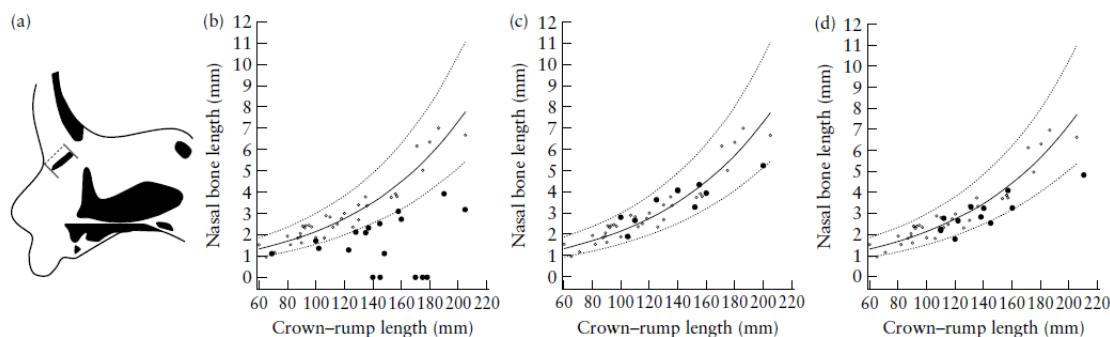


FIGURE 5 Nasal bone length compared to foot length (FL). Dots—normal fetuses; curves—normal standard with confidence intervals; open circles—isolated cleft lip fetuses; crosses—isolated cleft palate fetuses; open circles with cross—combined cleft lip and palate fetuses.

Tomado de: Hansen L, Skovgaard LT, Nolting D, Hansen BF, Kjaer I. Human prenatal nasal bone lengths: normal standards and length values in fetuses with cleft lip and cleft palate. *Cleft Palate Craniofac J.* 2005;42(2):165-70.

En un estudio publicado en el año 2009 por R. G. Mentz, U. Engel I. Kjær se midieron los huesos nasales de 18 fetos con trisomía 18 en radiografías postmortem (longitud corona-coxis de 69-200mm) y 12 fetos con síndrome de Turner (longitud corona-coxis de 110-210mm) y se compararon con el rango de referencia obtenido en el estudio de Hansen. En este estudio, los cuerpos fetales enteros fueron radiografiados en proyecciones laterales (para medida del tamaño y evaluación de la agenesia bilateral) y frontales (para evaluación de la agenesia unilateral), la longitud del hueso nasal fue medida con un capilar digital sobre las radiografías laterales. En los fetos con trisomía 18 la media de la longitud del hueso nasal fue del 61% de la media de la longitud que los fetos normales (95% IC, 52-71%,  $p < 0,0001$ ). Agenesia bilateral fue observada en 5 casos y agenesia unilateral en 2. En fetos con síndrome de Turner la media de la longitud del hueso nasal fetal fue de 88% de la longitud media de los fetos normales (95% IC, 75-103%;  $p = 0,15$ ) y ningún caso de agenesia fue observado (23).





Tomado de R. G. Mentz, U. Engel I. Kjær, Nasal bone length in trisomy 18, triploidy and Turner syndrome analyzed on postmortem radiographs. Letter to the Editor.2009; 34 (5), 607–8.

#### 2.4.2. Estudios ecográficos de la medidas del hueso nasal fetal en fetos con trisomía 21

En un estudio llevado a cabo por Cicero y colaboradores en el año 2002 con 1092 fetos (955 con cariotipo normal y 137 con cariotipo anormal) durante las semanas 11-14, se reportó que en el grupo de fetos cromosómicamente normales la longitud del hueso nasal fetal se incrementó significativamente con la longitud cráneo-coxis de una media de 1,3mm en una longitud cráneo-coxis de 45mm a 2,1mm con un longitud cráneo-coxis de 84mm. Dentro de los fetos con síndrome de Down con un hueso nasal detectable tendieron a tener huesos nasales más cortos que los cromosómicamente normales, sin embargo, las diferencias en las longitudes en los huesos nasales no fueron suficientemente grandes para ser de utilidad clínica (24).

Por otra parte, en un estudio por Orlandi y colaboradores en el año 2003, se midió el hueso nasal fetal en 1089 embarazos entre las 11-14 semanas, en este estudio el hueso nasal estuvo ausente en el 1% de los fetos normales, 66,7% de los casos con trisomía 21 y 41,7% de los casos con otras alteraciones patológicas. El hueso nasal en 5 casos en que estuvo presente midió menos de la medida media de los casos no afectados, aunque el grado de desviación de lo normal fue demasiado pequeño para que esta medida pueda ser útil en el tamizaje para trisomía 21 (25).

Por lo que hasta la fecha, la medida del hueso nasal en el primer trimestre no ha mostrado ser de beneficio para el tamizaje para trisomía 21 (26).

En relación con la medida del hueso nasal en trisomía 21 en las semanas 15- 24 de gestación, y considerando 6 estudios que compararon la longitud del hueso nasal fetal en trisomía 21 y fetos normales, la prevalencia combinada de hueso nasal ausente e hipoplásico en las semanas 14 a 25 es del 60% en fetos con

trisomía 21 y 1,4% en fetos euploides. En estos estudios usaron como métodos para definir hipoplasia uno de estos 3 métodos: 1) una medida menor del percentil 2,5, 5 y 10 del rango normal de gestación, 2) medida por debajo de un corte fijo de 2,5mm o 3mm, 3) una razón sobre puntos de cortes específicos en la razón del diámetro biparietal a la razón de la longitud del hueso nasal fetal. (26)

En un estudio de Bundukiy colaboradores en el año 2003 se evaluó la aplicación del estudio de la longitud del hueso nasal en el screening ecográfico del 2 trimestre para trisomía 21 tomando como rango de referencia de la longitud del hueso nasal en 1923 embarazos de 16-24 semanas de gestación en mujeres de más de 35 años de edad. El screening para trisomía 21 usando el percentil 5 como valor de corte resultó en una sensibilidad de 59,1% para una tasa de falsos positivos de 5,1%, la razón de riesgo fue de 11,6 (27).

Table 1 Distribution of the nasal bone length measurement (mm) according to gestational age

<i>Gestational age (weeks)</i>	<i>Percentile</i>		
	<i>2.5<sup>th</sup></i>	<i>5<sup>th</sup></i>	<i>50<sup>th</sup></i>
16 – 16+6	3.7	4.1	5.9
17 – 17+6	4.0	4.3	6.2
18 – 18+6	4.3	4.6	6.5
19 – 19+6	4.5	4.9	6.8
20 – 20+6	4.8	5.2	7.0
21 – 21+6	5.1	5.4	7.3
22 – 22+6	5.4	5.7	7.6
23 – 23+6	5.6	6.0	7.8
24	5.8	6.1	8.0

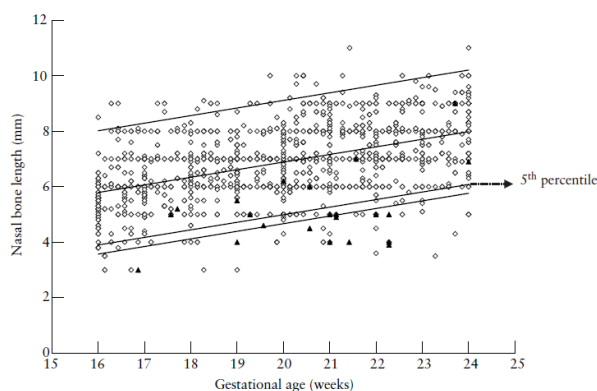


Figure 2 Reference ranges of nasal bone length from 16 to 24 weeks' gestation. 95% confidence interval is given and 5<sup>th</sup> percentile line is indicated. ◊, normal cases; ▲, trisomy 21 cases.

Tomado de: Bunduki V, Ruano R, Miguelez J, Yoshizaki CT, Kahhale S, Zugaib M. Fetal nasal bone length: reference range and clinical application in ultrasound screening for trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2003;21(2):156-60.

Por lo tanto, la combinación de la hipoplasia o ausencia del hueso nasal fetal, si es confirmada por estudios adicionales, puede probar ser uno de los marcadores ecográficos más importantes del segundo trimestre (26).

**Table VII** NBL measurements and percentiles at 12, 16, and 20 weeks' gestation based on data in euploid fetuses

Author	N (total)	NBL (mm)											
		12 wks (percentiles)				16 wks (percentiles)				20 wks (percentiles)			
		2.5th	5.0th	10th	50th	2.5th	5.0th	10th	50th	2.5th	5.0th	10th	50th
Guis et al <sup>39</sup>	376	—	—	—	—	3.1	—	—	5.2	5.7	—	—	7.6
Sonek et al <sup>40</sup>	3547	1.7	1.8	—	2.8	3.2	3.4	—	4.7	5.0	5.2	—	6.7
Orlandi et al <sup>23</sup>	1000	—	—	2.1	2.6	—	—	—	—	—	—	—	—
Bunduki et al <sup>41</sup>	1609	—	—	—	—	3.7	4.1	—	5.9	4.8	5.2	—	7.0
Cicero et al <sup>42</sup>	955	—	1.2	—	1.5	—	—	—	—	—	—	—	—
Cusick et al <sup>36</sup>	799	—	—	1.4	1.9	—	—	3.3	4.1	—	—	5.1	6.2
Bromley et al <sup>32</sup>	223	—	—	—	—	3.4	3.6	3.9	4.7	—	—	—	—
Tran et al <sup>37</sup>	136	—	—	—	—	3.1	—	—	3.4	4.9	—	—	5.2
Gamez et al <sup>43</sup>	1899	—	—	—	—	—	—	—	—	5.3	—	—	6.3
Ranges (mm)		1.7	1.2-1.8	1.4	1.5-2.8	3.1-3.7	3.1-4.1	3.3-3.9	3.4-5.9	4.8-5.3	5.2-5.7	5.1	5.2-7.6

**Table VIII** Summary of data from 2D ultrasound studies comparing the prevalence of NB abnormalities in trisomy 21 and in euploid fetuses

Study	Gestation (wks)	Abnormal NB			LR	
		Definition	Trisomy 21	Normal	Positive	Negative
Bromley et al <sup>32</sup>	15-20	Short	5/10 (50.0%)	10/222 (4.5%)	11.1	0.52
		Absent or short	11/16 (68.8%)	11/223 (4.9%)	14.0	0.32
Cicero et al <sup>33</sup>	15-22	Short	10/23 (43.5%)	6/976 (0.6%)	72.5	0.56
		Absent or short	21/34 (61.8%)	12/982 (1.2%)	51.5	0.39
Bunduki et al <sup>41</sup>	16-24	Short	13/22 (59.1%)	82/1,600 (5.1%)	11.6	0.43
Gamez et al <sup>43</sup>	19-22	Short	5/5 (100%)	34/1899 (1.8%)	55.6	—
Tran et al <sup>37</sup>	14-24	Short	4/20 (20.0%)	4/135 (3.0%)	6.7	0.82
		Absent or short	15/31 (48.4%)	5/136 (3.7%)	13.1	0.53
Cusick et al <sup>36</sup>	16-19	Short	3/3 (100%)	0/811 (0%)	—	—
		Absent or short	4/4 (100%)	3/814 (0.36%)	278	—
Total		Short	40/83 (48.2%)	136/5643 (2.4%)	20.1	0.53
		Absent or short	51/85 (60.0%)	31/2155 (1.4%)	42.8	0.40

**Tomado de: Sonek JD, Cicero S, Neiger R, Nicolaides KH. Nasal bone assessment in prenatal screening for the trisomy 21. American journal of Obstetrics and Gynecology. 2006; 195: 1219-30**

Estudios ecográficos 3D han confirmado que hay una mayor diferencia en la prevalencia de ausencia del hueso nasal en fetos con trisomía 21 y fetos euploides. Los datos combinados de 3 estudios ecográficos 3D estiman la prevalencia de ausencia del hueso nasal en fetos con trisomía 21 del segundo trimestre en 42% y la prevalencia de ausencia de hueso nasal en fetos euploides del 6% (26).

**Table IX** Second- and third-trimester 3D ultrasound studies comparing the prevalence of NB abnormalities in trisomy 21 and euploid fetuses

Study	Gestation (wks)	NB abnormality	Prevalence	
			Trisomy 21	Normal karyotype
Lee et al <sup>45</sup>	16-30	Absence (examiner 1)	8/20 (40.0%)	2/20 (10.0%)
		Absence (examiner 2)	9/20 (45.0%)	4/20 (20.0%)
Goncalves et al <sup>46</sup>	19-25	Absence	9/26 (34.6%)	1/27 (3.7%)
Benoit et al <sup>38</sup>	17-33	Bilateral absence	6/20 (30.0%)	0/18 (0%)
		Unilateral absence	3/20 (15.0%)	0/18 (0%)
		Either uni- or bilateral absence	9/20 (45.0%)	0/18 (0%)
Total	16-33	Absence	28/66 (42.4%)	4/65 (6.1%)

NB abnormalities in trisomy 21 and euploid fetuses.

**Tomado de: Sonek JD, Cicero S, Neiger R, Nicolaides KH. Nasal bone assessment in prenatal screening for the trisomy 21. American journal of Obstetrics and Gynecology. 2006; 195: 1219-30**

## 2.5. Estudios de correlación imagenológica-patológica del hueso nasal en trisomía 21

Pocos estudios hasta la fecha han estudiado la correlación entre la presencia del hueso nasal por imagenología versus histopatología incluyendo en casos con trisomía 21.

Tuxen y colaboradores, en el año 2003 estudiaron en 33 fetos abortados con trisomía 21 entre 14-25 semanas, la presencia y longitud del hueso nasal fetal en radiografías de bloques de tejido medio sagital y lo correlacionaron con la histología. En este estudio, un bloque de tejido medio sagital fue aislado mediante incisiones parasagitales laterales al foramen magno y a lo largo de los márgenes laterales de toda la espina, radiografías del bloque de tejido medio sagital fueron tomadas en proyecciones laterales y frontales, en la proyección frontal, la parte del maxilar del bloque de tejido fue orientada para producir una proyección axial del complejo maxilar, incluyendo los huesos nasales. Los bloques de tejidos medios sagitales fueron fijados en formaldehído neutro y posteriormente decalcificados en partes iguales de 2% de ácido cítrico y 20% de citrado de sodio, los bloques de tejido fueron deshidratados y posteriormente embebidos en parafina. Los especímenes fueron orientados para que secciones seriadas pudieran ser cortadas paralelas al plano sagital medio, los especímenes fueron cortados a secciones de 4 um, cada quinta sección fue teñida con azul de toluidina (pH 7), secciones adyacentes fueron teñidas con Azul de Alcian/ Van Gieson (pH 3) (28).

Ellos encontraron que 30% de los casos tenían ausencia unilateral o bilateral del hueso nasal. La histología confirmó la ausencia del hueso nasal por radiología en todos los casos donde esta se llevó a cabo y confirmó la presencia del hueso

nasal en los 23 casos que tenían evidencia radiológica de formación de hueso nasal (28).

Por otra parte, en un estudio de Minderer y colaboradores en el año 2003 se comparó los hallazgos ecográficos prenatales del hueso nasal en 17 fetos con trisomía 21 (rango de edad gestacional de 11-14 semanas) con los hallazgos morfológicos para determinar si el hueso estaba realmente ausente. En este estudio, la examinación de los fetos se realizó mediante secciones medias sagitales después de la tinción con hematoxilina y eosina del tejido fijado en formol. De los 17 casos, el hueso nasal fue ecográficamente evidente pero con hipoplasia severa en 10 casos, ausente en 6 y en el caso restante no fue posible identificarlo por la posición fetal. Por medio del estudio histológico el hueso nasal estuvo presente en 16 casos. Tras la revisión retrospectiva de las imágenes ecográficas se pudo identificar el hueso nasal en 5/6 casos en los cuales fueron inicialmente considerados ser ausentes (falso hallazgo de hueso nasal ausente que en realidad estaba presente pero hipoplásico) (29)

### **3. Planteamiento del problema y Justificación**

Actualmente el papel de la patología en el estudio fetal sirve como un patrón de calidad de los procesos de atención materno-fetal por lo que existe una necesidad de trabajo conjunto y es necesario tener un lenguaje en común entre el ecografista y el anatomopatólogo.

Esta es una propuesta para la medición conjunta de uno de los parámetros ecográficos con más variabilidad interobservador y uno de los más importantes para aneuploidías en el tamizaje ecográfico de la semanas 11-14 y en el estudio ecográfico del segundo trimestre, en donde la medición del hueso nasal fetal como marcador de aneuploidía necesitará primero de la estandarización de la medición y el establecimiento de razones de riesgo exactas.

Aunque hay varios estudios imagenológicos sobre las medidas del hueso nasal fetal tanto en poblaciones euploides como aneuploides, el estudio del hueso nasal fetal a nivel histopatológico no está estandarizado, no existen estudios de mediciones macroscópicas morfológicas por anatomopatología y no se ha determinado si dichas medidas corresponden a los valores reportados por los estudios ecográficos hasta la fecha, por lo que es necesario en primer lugar la estandarización del procedimiento en el laboratorio de anatomía patológica con el objetivo de llevar a cabo una estandarización conjunta con la evaluación ecográfica del hueso nasal por parte del ecografista y el anatomopatólogo.

Además al estandarizar la evaluación histopatológica del hueso nasal fetal, permitiría reemplazar la valoración subjetiva que actualmente se lleva a cabo para la evaluación del puente nasal fetal como “plano o deprimido” por un criterio más objetivo y medible, como es la medida del hueso nasal o su ausencia.

De igual forma, al estandarizar el estudio histopatológico del hueso nasal fetal se podría constituir en control de calidad del estudio ecográfico y mejorar la información suministrada a los padres en el contexto de la consejería genética.

#### **4. Pregunta de investigación**

¿El estudio histopatológico tanto macroscópico como microscópico del hueso nasal fetal podría aportar información importante en el proceso de atención materno-fetal?

#### **5. Objetivos**

##### **5.1. Objetivo general**

Establecer un protocolo estándar para el procesamiento y reporte del hueso nasal en fetos que permita comparar los resultados de los estudios ecográficos

##### **5.2. Objetivos específicos**

- Utilizar un protocolo para el procedimiento de disección facial para identificar y tomar los bloques para el estudio del hueso nasal
- Realizar de forma estándar la descripción macroscópica del hueso nasal fetal
- Determinar la presencia y la medida histopatológica del hueso nasal fetal
- Establecer el desarrollo del hueso nasal fetal normal
- Comparar las medidas del hueso nasal en los fetos “normales” de nuestro estudio con las medidas reportadas en la literatura
- Comparar la presencia o ausencia del hueso nasal fetal por análisis histopatológico y con los estudios ecográficos
- Correlacionar el desarrollo del hueso nasal con otras alteraciones reportadas en el estudio anatomopatológico y ecográfico

## **6. Métodos**

**6.1. Tipo de diseño:** Estudio descriptivo prospectivo

### **6.2. Población de estudio**

Todos los fetos estudiados en la Clínica Colombia desde marzo hasta diciembre del año 2014

#### **Criterios de inclusión:**

- Todos los casos de fetos ya sean productos de abortos espontáneos o terminaciones voluntarias entre las semanas 11 a 27 de gestación con consentimiento informado para la realización del estudio anatomopatológico
- Los fetos que ya tengan un procedimiento completo y resultado anatomopatológico confirmado
- Disponibilidad de como mínimo un estudio ecográfico

#### **Criterios de exclusión:**

- Todos los casos sin consentimiento informado para la realización del estudio anatomopatológico
- No disponibilidad de como mínimo un estudio ecográfico
- Fetos fragmentados o macerados que no permitan una evaluación adecuada del hueso nasal

### **6.3. Marco muestral**

Todos los fetos tanto euploides como aneuploides recibidos y almacenados en la Clínica Colombia desde marzo hasta diciembre del año 2014

### **6.4. Guía paso a paso del estudio**

6.4.1. Toma de las variables clínicas y epidemiológicas de las historias clínicas disponibles en el sistema Sophia® de la Institución y

resultados de estudios citogenéticos en los casos disponibles en Omega

6.4.2. Toma de las variables ecográficas de las bases de datos de los sistemas de la Unidad Materno fetal de la Institución

6.4.3. Estudio histopatológico:

6.4.3.1. Estudio histopatológico fetal de rutina: incluye la evaluación histopatológica de rutina llevada a cabo en el servicio de anatomía patológica abarca principalmente la toma de datos como las medidas antropométricas: longitud corona-coxis, corona-talón, longitud plantar, hallazgos morfológicos externos, hallazgos morfológicos internos, descripción microscópica y diagnóstico. Con toma de fotografías.

6.4.3.2. Evaluación histopatológica del hueso nasal:

- Disección y levantamiento facial: Iniciando en la incisión coronal del cuero cabelludo previamente hecha para la disección de las estructuras craneales y dirigiéndose caudalmente de forma cuidadosa para no dañar estructuras vecinas como los globos oculares y párpados hasta identificar todos los bordes de los huesos nasales llegando al borde inferior de dichos huesos. En los casos que no sea posible realizar la disección y levantamiento facial sin desgarrar la piel por ser muy frágil se procederá simplemente a disecar la piel hasta observar claramente los huesos nasales. Si no es posible ni siquiera llevar a cabo la disección facial como sería el caso en fetos muy pequeños y en los que no se podría ni observar el hueso nasal se procederá directamente a realizar los cortes parasagitales mediales. Con toma de fotografías frontales, laterales y superiores.
- Descripción de los huesos nasales a diferentes edades gestacionales, en relación a: forma, consistencia, delimitación, bordes articulares y relación con las diferentes estructuras óseas de la cara fetal. Con toma de fotografías frontales y laterales.
- Toma de las medidas del hueso nasal:
- Longitud nasal medial (en mm): se toma desde el borde superior medial del hueso nasal en el nasion hasta el borde inferior medial del hueso nasal.
- Longitud nasal lateral (en mm): se toma desde el borde superior del hueso nasal hasta el borde inferior lateral del hueso nasal



- Ancho nasal (mm): se toma de lado a lado de la mayor abertura del hueso nasal.



**Imagen1. Dos ejemplos de la toma de la longitud lateral del hueso nasal en dos casos mediante un calibrador de precisión.**



**Imagen 2. Ejemplo de toma del ancho del hueso nasal fetal con un calibrador de precisión**

- Toma del hueso nasal mediante cortes parasagittales: mediante incisiones parasagittales que abarquen ambos huesos nasales y las áreas mediales de los huesos frontal y maxilares y profunda con la toma de la lámina perpendicular del etmoides (hasta una profundidad de 2cms, dependiendo además de la edad gestacional) e inferior que abarque la parte superior del cartílago nasal.
- Estudio histopatológico microscópico: el bloque de tejido obtenido se corta por la línea media entre los dos huesos nasales y se fija en formaldehído neutro y si el tejido no es

cortado fácilmente con el bisturí se decalcificará en ácido nítrico por 4 horas previo a su procesamiento, posterioral ser embebidos en parafina serán cortados a secciones de 4µm de grosor a través del eje mayor, hasta 5 niveles y teñidos con hematoxilina y eosina. Se buscarán puntos de referencia anatómicos a nivel histológico para la identificación correcta del hueso nasal, posteriormente se evaluará la presencia del hueso nasal mediante la búsqueda de los centros de osificación intramembranosa alrededor de la capsula nasal cartilaginosa y determinarán su longitud en mm a través del eje mayor. Con toma de fotografías.

### **Los fetos serán clasificados como normales o anormales:**

#### **Fetos “normales”**

Los fetos serán clasificados como normales si cumplen con los siguientes criterios:

- No evidencia de alteraciones ecográficas reportadas,
- No evidencia de malformaciones al estudio histopatológico y
- No evidencia de alteraciones cromosómicas por el estudio citogenético

Este grupo puede incluir tanto abortos espontáneos y constituirá el grupo cuyas medidas se compararán con las medidas de los fetos “normales” de los otros estudios.

#### **Fetos “anormales”**

Todos los fetos que no cumplan con los criterios de anormalidad, este incluye los casos con diagnóstico confirmado de aneuploidía, presencia de malformaciones al estudio ecográfico o anatomopatológico, aunque no es uno de los objetivos principales del estudio (la evaluación de los fetos anormales), los casos que no cumplan con los criterios de normalidad se compararán los resultados de los fetos normales.

### **6.5. Principales variables a medir**

VARIABLES	TIPO	UNIDAD O ESCALA DE MEDICIÓN
Edad materna	Cuantitativa, discreta	Razón
Estudio citogenético	Cualitativa, dicotómica	Nominal
Estudio ecográfico	Cualitativa,	Nominal

	dicotómica	
Edad gestacional al momento del estudio ecográfico	Cuantitativa, continua	Razón
Hueso nasal por estudio ecográfico	Cualitativa, dicotómica	Nominal
Diagnóstico histopatológico	Cualitativa, politómica	Nominal
Edad gestacional al momento del estudio histopatológico	Cuantitativa, discreta	Razón
Tiempo entre el estudio ecográfico y el estudio histopatológico	Cuantitativa, discreta	Razón
Longitud plantar	Cuantitativa, continua	Razón
Longitud corona-coxis	Cuantitativa, continua	Razón
Longitud medial del hueso nasal	Cuantitativa, continua	Razón
Longitud lateral del hueso nasal	Cuantitativa, continua	Razón
Ancho del hueso nasal	Cuantitativa, continua	Razón
Hueso nasal por análisis microscópico	Cualitativa, dicotómica	Nominal
Longitud del hueso nasal por análisis microscópico	Cuantitativa, discreta	Razón

## **6.6. Proceso de recolección y sistematización de la información**

Las variables serán tabuladas en una hoja de cálculo del software Microsoft Office Excel 2010.

## **6.7. Plan de análisis de la información**

### **6.7.1. Métodos de análisis de la información:**

Los datos serán analizados en el software Microsoft Office Excel 2010. Se establecerán tablas de distribución de frecuencias y tablas de contingencia para las variables cualitativas y tablas de frecuencias y medidas de tendencia central para las variables cuantitativas. Además se realizarán análisis de regresión lineal

para determinar la asociación de la longitud del hueso nasal con la edad gestacional y las medidas antropométricas.

#### **6.7.2. Estrategias para control de sesgos y variables de confusión**

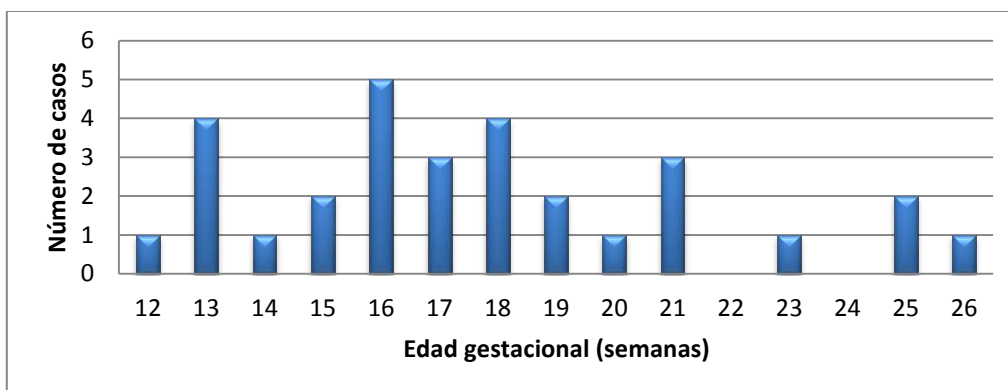
Las medidas del hueso nasal por análisis histopatológico macroscópico serán llevadas a cabo con un solo instrumento de medición, un calibrador de precisión en buen estado y serán realizados por mismo operador. Para la evaluación microscópica del hueso nasal se localizarán los puntos de referencia anatómicos claramente antes de valorar el hueso nasal.

### **7. Resultados**

Un total de 40 fetos en el intervalo de tiempo del estudio cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión, de los cuales 30 cumplieron con los criterios establecidos defetos “normales” y 10 no cumplieron con los criterios de “normalidad”.

#### **Fetos normales**

Dentro de los 30 fetos “normales”, 15 (50%) fueron del sexo femenino y 15 (40%) del sexo masculino. La media de edad gestacional al momento del estudio histopatológico fue de 18 semanas (rango: 12 a 26 semanas) calculadas mediante la longitud plantar, corroboradas con la estimación de la edad gestacional por el estudio ecográfico del primer trimestre a la fecha del estudio histopatológico. La distribución del númerode casos en relación con la edad gestacional se muestra en la gráfica 1.



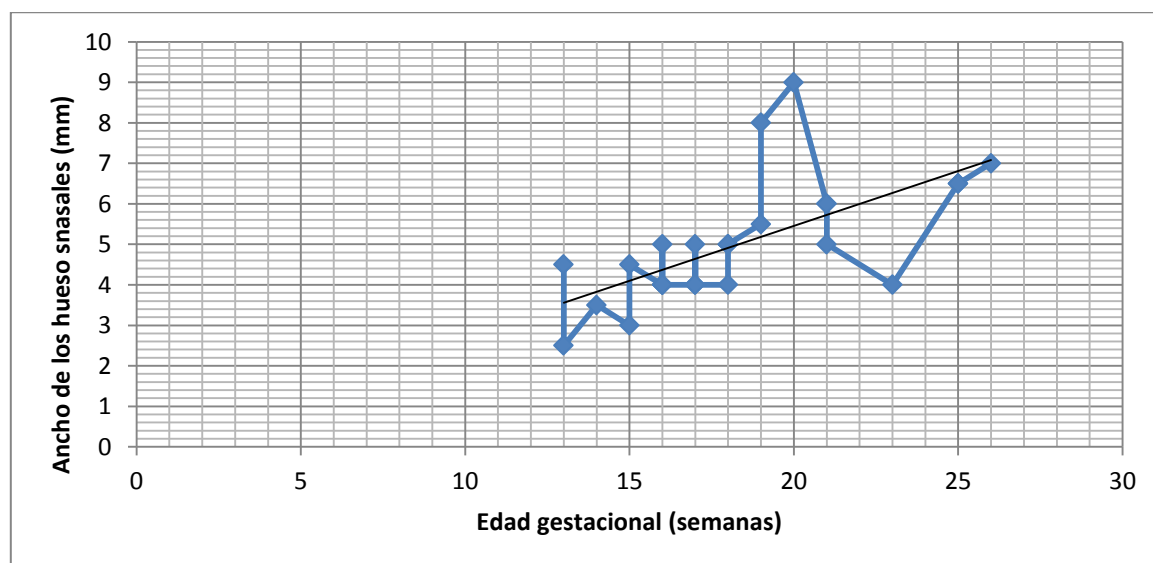
**Gráfica 1. Distribución del número de fetos “normales” en relación con la edad gestacional.**

La media de la edad materna gestacional fue de 27 años (rango: 15 a 37 años).

En todos los fetos “normales” el hueso nasal estuvo “presente” al estudio ecográfico del primer trimestre (semanas 11-14), de igual forma ningún caso mostró alteraciones en los otros marcadores ecográficos en la ecografía del primer trimestre ni alteraciones ecográficas mayores o menores en el estudio ecográfico del segundo trimestre en los casos en los que fue realizado.

En relación al motivo del fallecimiento, 10 fueron interrupciones voluntarias de la gestación (9 por riesgo psicosocial y una por riesgo de la salud materna) y los 20 fetos restantes fueron abortos espontáneos debidos a infecciones materno-fetales como corioamnionitis siendo la más frecuente de las causas de la pérdida de la gestación.

En todos los fetos “normales” estudiados el examen histopatológico macroscópico externo e interno fetal de rutina fue considerado “normal” en relación a la ausencia de malformaciones fetales, el único hallazgo al examen morfológico externo reportado frecuentemente fue la presencia de “puente nasal ancho, plano o deprimido” en 12 fetos (40%)( rango: 13 -26 semanas), no existiendo asociación de esta valoración subjetiva del puente nasal con la medida del ancho de los huesos nasales, la cual además, no mostró una relación lineal de crecimiento con la edad gestacional mediante un análisis de regresión lineal en los 27 fetos en que fue posible medirlo ( $R^2=0,43$ ,  $p= 0,79$ ). Gráfica 2.

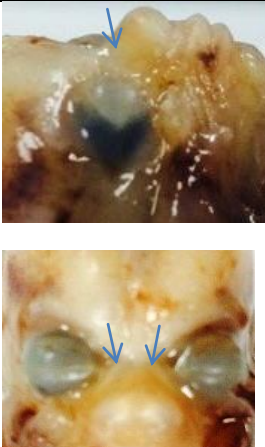
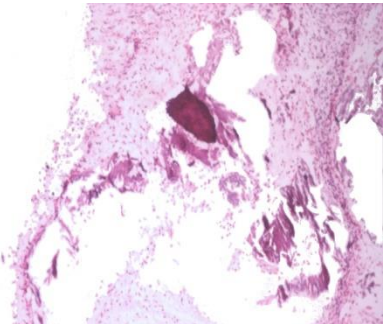


**Gráfica 2. Relación de la medida del ancho del hueso nasal y la edad gestacional. ( $R^2=0,43$ ,  $p= 0,79$ )**


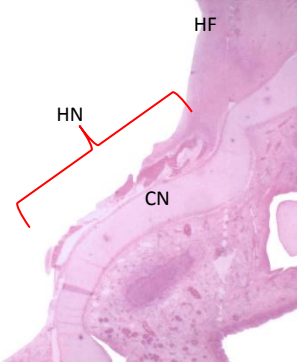
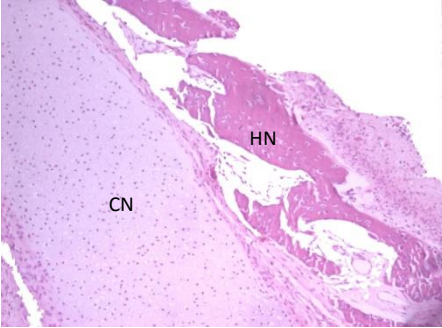


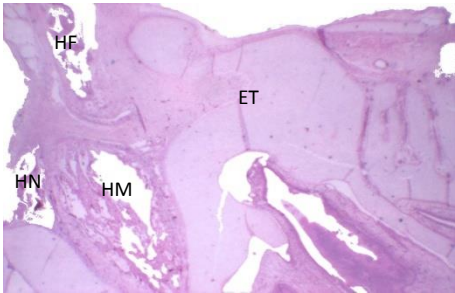
Las características histopatológicas macroscópicas externas y microscópicas del hueso nasal fetal en los fetos “normales” se describen a continuación en relación a la edad gestacional. Tabla 1.

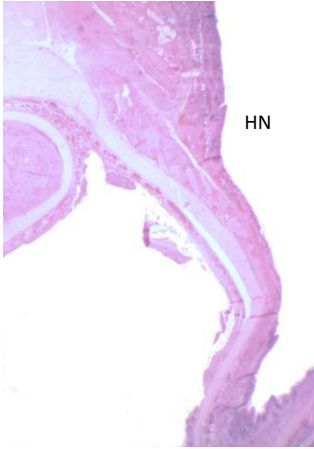
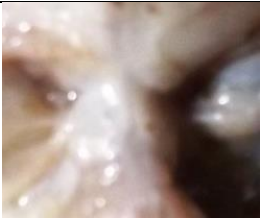
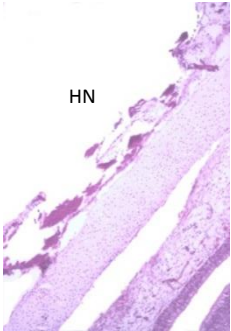
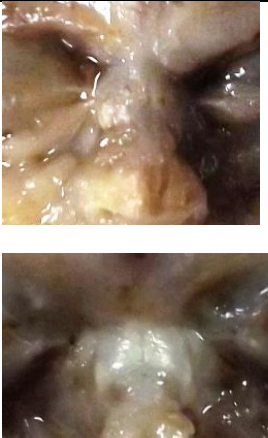
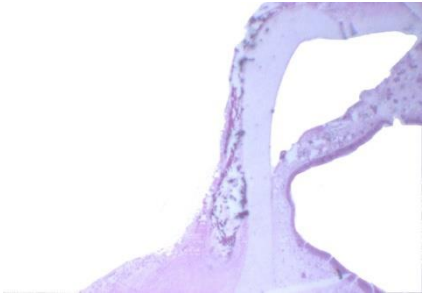
En general, antes de las 14 semanas una adecuada medición morfológica macroscópica no fue posible por lo que la evaluación microscópica fue la única forma de corroborar la presencia del hueso nasal. A partir de las 14 semanas fue posible tanto la valoración morfológica externa, medición macroscópica y la evaluación microscópica del hueso nasal.

A lo largo del primer y segundo trimestres los huesos nasales fetales pasan de ser más cuadriláteros a más elongados y la razón longitud/ancho aumenta, se hacen más duros, pasan de ser laminares a presentar una superficie interna cóncava y una externa convexa y el borde superior más angulado. Hacia el final del segundo trimestre por la consistencia mayor de las estructuras óseas no fue fácil obtener el bloque de tejido parasagital, por lo que un corte parasagital medial menos amplio y más superficial que abarque los huesos nasales si es factible.

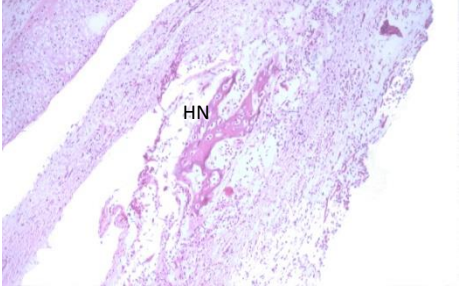

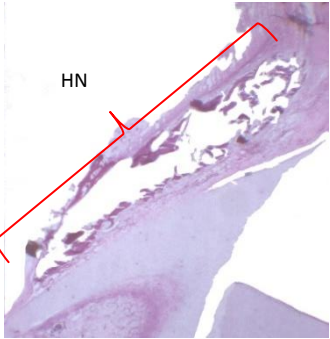
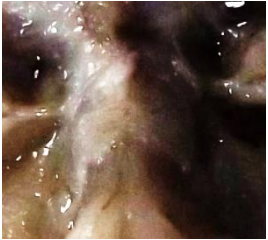
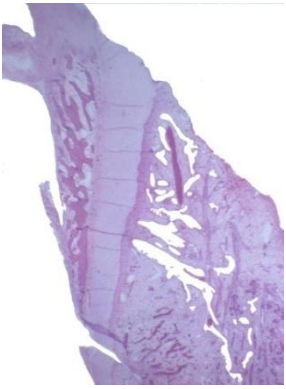

Edad gestacional (semanas)	Imagen macroscópica	Imagen microscópica	Descripción Morfológica del hueso nasal
12-13		 <p>Centro de osificación en un feto de 12 semanas de 1mm de longitud.</p>	<p>La piel facial es muy frágil para la disección con levantamiento facial completo.</p> <p>No fue posible llevar a cabo la visualización y medida del hueso nasal por medición macroscópica en el feto de la semana 12 y dos de la semana 13. En estos casos se llevó a cabo directamente el corte medio sagital profundo que abarcó la región sagital medial del hueso frontal y la lámina perpendicular del hueso etmoides y caudalmente hasta los maxilares</p>


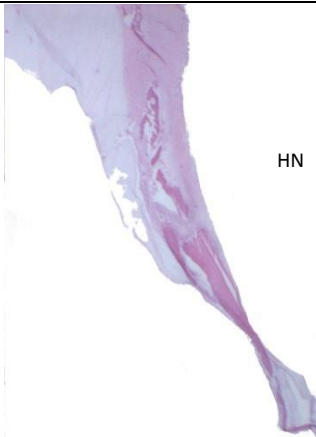
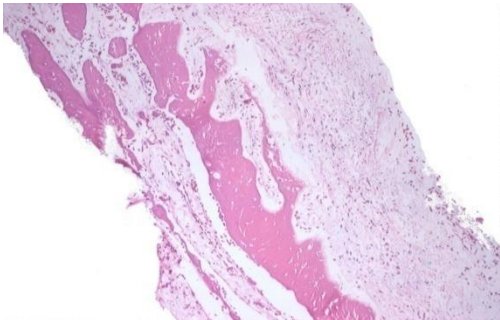

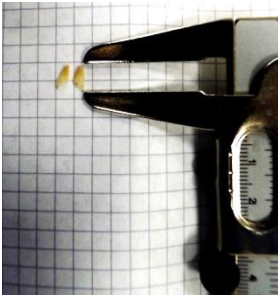
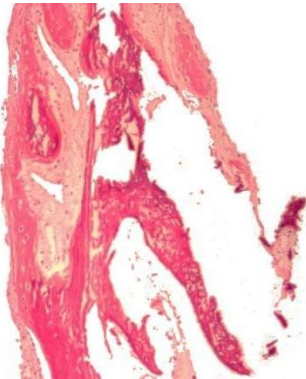



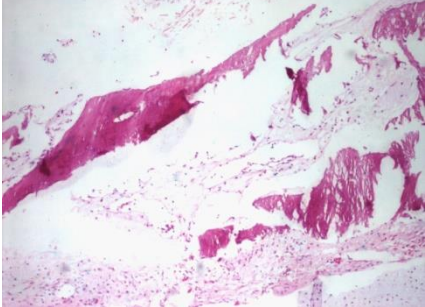
			<p>superiores, por lo que, sólo fue posible llevar a cabo la valoración microscópica histológica en relación a la presencia del hueso nasal.</p> <p>Microscópicamente los centros de osificación midieron de 1-2mm en su mayor longitud a lo largo de la cápsula nasal cartilaginosa.</p>
13-14		  <p><b>Feto de 13 semanas. Hueso nasal con centro de osificación de 2mm de longitud</b></p>	<p>En algunos casos a las 13 semanas ya fue posible visualizar el hueso nasal pero sus bordes no fueron tan bien definidos. A las 14 semanas la visualización del hueso nasal fetal fue más clara y ya fue posible disecar la piel facial para llevar a cabo la medición macroscópica, sin embargo era frágil y susceptible de desgarro.</p> <p>Los huesos nasales son cuadriláteros, anchos y laminares.</p> <p>El corte pudo realizarse como en el caso anterior sin la necesidad de abarcar todo el maxilar superior.</p> <p>Microscópicamente los centros de osificación tienen mayor longitud (hasta 2mm) a lo largo de la cápsula nasal cartilaginosa. Ya desde estas edades gestacionales es posible observar la relación del hueso nasal en crecimiento con la cápsula nasal cartilaginosa (CN), el hueso frontal (HF), el hueso maxilar (HM) y el etmoides cartilaginoso (ET) los cuales sirvieron como puntos de referencia histológicos para la localización microscópica correcta del hueso nasal.</p>
15-16	 	 <p><b>Feto de 15 semanas. Relaciones histológicas del hueso nasal con los huesos maxilares y frontal en osificación intramembranosa y el etmoides cartilaginoso.</b></p>	<p>La piel es más fácil de disecarla, el nasion es fácil de identificar. La visualización del hueso nasal es más sencilla, el hueso tiene consistencia más dura y sus bordes son más fácilmente definibles, por lo que se facilita la medición macroscópica. La superficie externa se observa convexa y la interna cóncava.</p> <p>Microscópicamente los centros de osificación tienen mayor longitud (entre 3 a 4mm) a lo largo de la membrana nasal cartilaginosa.</p>

		 <p><b>Feto de 16 semanas. Hueso nasal de 4mm de longitud</b></p>	
17		 <p><b>Feto de 17 semanas. Hueso nasal de 4mm de longitud</b></p>	<p>Los huesos nasales crecen en sus longitudes, su consistencia se hace mayor, sus bordes más delimitados.</p> <p>Microscópicamente los centros de osificación tiene mayor longitud (entre 3 a 4mm)</p>
18		 <p><b>Feto de 18 semanas. Hueso nasal de 4mm de longitud</b></p>	



		 <p>Feto de 18 semanas Hueso nasal de 3mm de longitud</p>	
19		 <p>Feto de 19 semanas Hueso nasal de 5mm de longitud</p>	<p>Los huesos nasales crecen en sus longitudes, sus bordes son más delimitados y su consistencia es mayor por lo que los bloques de tejidos fueron decalcificados previo al procesamiento.</p> <p>Microscópicamente los centros de osificación tiene mayor longitud (entre 5 – 6mm)</p>
20		 <p>Feto de 20 semanas Hueso nasal de 5mm de longitud</p>	
21			<p>Los huesos nasales son más elongados y de mayor consistencia por lo que podrían ser disecados individualmente sin embargo no es necesario para llevar a cabo la medición macroscópica</p> <p>Microscópicamente los centros de osificación tienen mayor longitud (hasta 6mm).</p>

		 <p>HN</p> <p>Feto de 21 semanas Hueso nasal de 6mm de longitud</p>  <p>Feto de 21 semanas Hueso nasal de 6mm de longitud</p>	
23	 	 <p>Feto de 23 semanas. El hueso nasal midió 6mm de longitud.</p>	<p>En el caso de 23 semanas los huesos nasales se observaron como estructuras independientes de los huesos maxilares y frontal por lo que no fue posible realizar el corte sagital medial que los incluyera y fueron medidos y procesados como estructuras individuales.</p> <p>De igual forma fue posible observar que la superficie interna es cóncava y la externa convexa, el borde superior más angulado.</p> <p>Microscópicamente los centros de osificación tienen mayor longitud (hasta 6mm).</p>
25			<p>Los huesos nasales son de consistencia aun mayor, no son fácilmente disecables del hueso frontal y maxilares. El bloque de</p>

		 Feto de 25 semanas. Hueso nasal de 7mm de longitud.	tejido sagital medio únicamente abarcó los huesos nasales debido a la consistencia de las estructuras óseas vecinas.  Microscópicamente los centros de osificación tiene mayor longitud (hasta 7mm).
--	---	---	--

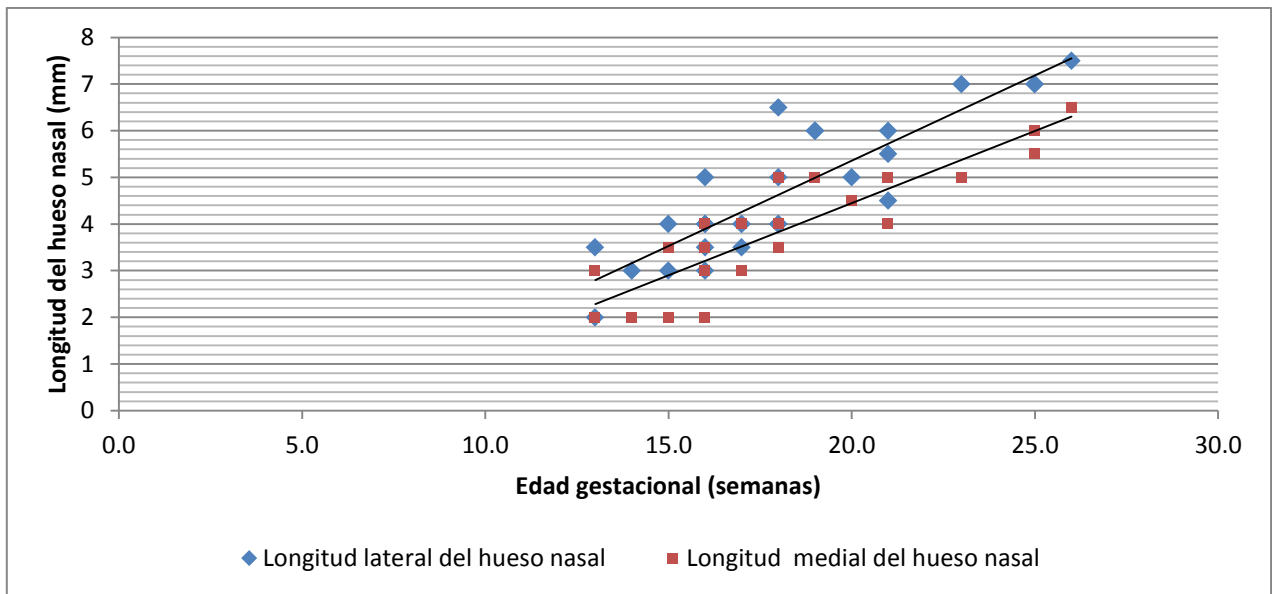
**Tabla 1. Características histopatológicas macroscópicas externas y microscópicas del hueso nasal fetal de los fetos normales.**

El hueso nasal fue medible morfológicamente a partir de dos fetos de la semana 13 de gestación, no fue posible llevar a cabo la medición en el feto de 12 semanas y en dos de 13 semanas, por lo que únicamente en los 27 fetos restantes fue posible analizar las longitudes medial y lateral del hueso nasal fetal en relación a la edad gestacional.

En la gráfica 3 se observa que las longitudes medial y lateral del hueso nasal fetal se incrementaron con la edad gestacional de 3mm de longitud medial y 3,5mm de longitud lateral a las 13 semanas a 6,5mm de longitud medial y 7,5mm de longitud lateral a las 26 semanas. Una relación lineal con la edad gestacional fue confirmada mediante un análisis de regresión lineal:

Longitud lateral del hueso nasal=  $-2,22 + (0,378 \times \text{la edad gestacional})$  ( $R^2=0,771$ ,  $p=0,009$ )

Longitud medial del hueso nasal=  $-2,01 + (0,322 \times \text{la edad gestacional})$  ( $R^2=0,778$ ,  $p=0,005$ )

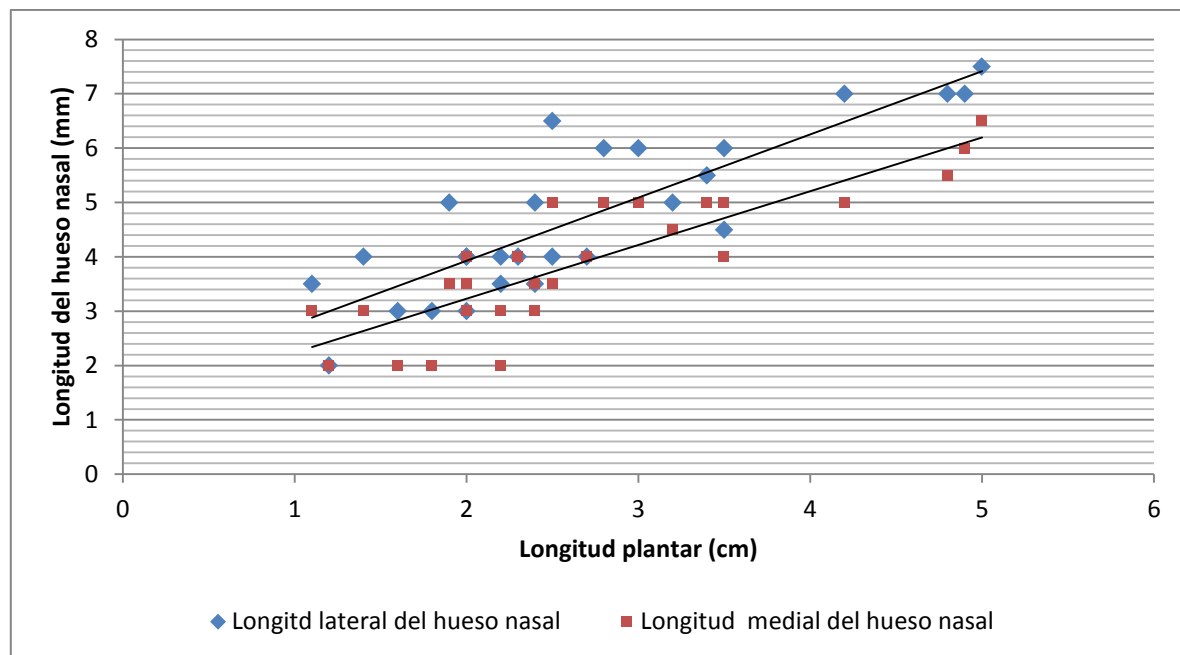


**Gráfica 3. Relación lineal de las longitudes mediales y laterales del hueso nasal con la edad gestacional**

También se observó que las longitudes medial y lateral del hueso nasal fetal se incrementaron con el aumento de la longitud plantar de 3mm de longitud medial y 3,5mm de longitud lateral con una longitud plantar de 1,1 cms a 6,5mm de longitud medial y 7,5mmde longitud lateral con una longitud plantar de 5cms. Gráfica 4. Una relación lineal con la edad gestacional fue confirmada mediante un análisis de regresión lineal:

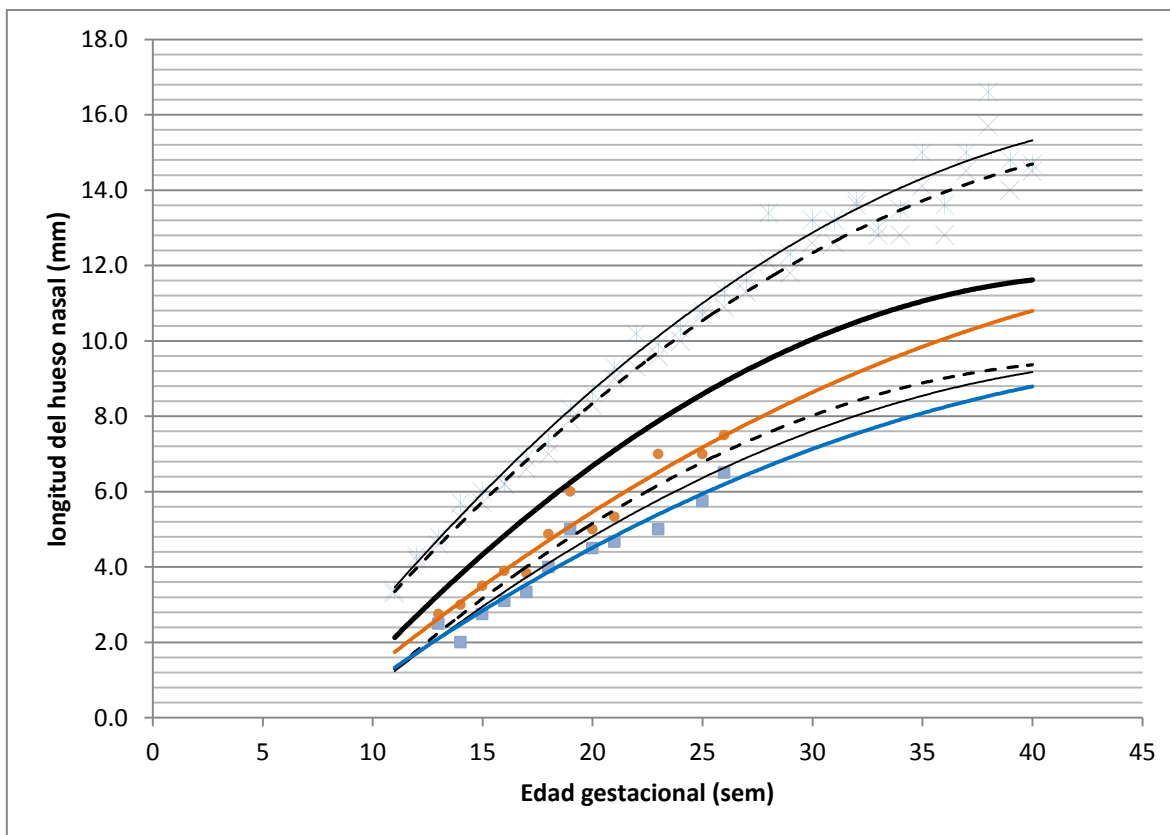
Longitud lateral del hueso nasal=  $1,47 + (1,198 \times \text{longitud plantar})$  ( $R^2=0,725$ ,  $p=0,002$ )

Longitud medial del hueso nasal=  $1,11 + (1,027 \times \text{longitud plantar})$  ( $R^2=0,741$ ,  $p=0,005$ )



**Gráfica 4. Relación lineal de las longitudes mediales y laterales del hueso nasal con la longitud plantar**

En la gráfica 5 se muestra una curva polinómica de segundo orden basado en los datos de 3537 medidas del hueso nasal entre las 11-40 semanas de gestación según el estudio de Sonek y colaboradores del 2003 (19). La media de la longitudes laterales y mediales del hueso nasal fetal de nuestro estudio se desviaron de la de Sonek, la media de la longitud lateral estuvo sobre el percentil 2,5 sin embargo, la media de la longitud medial estuvo debajo del percentil 2,5.



**Gráfica 5. Curva polinómica de segundo orden basada en los datos de Sonek y colaboradores en el año 2003 (19). Media ( —), percentiles 5 y 95 (----) y percentiles 2,5 y 97,5 (—). Nuestros datos se representan como: Longitud medial (■) y longitud lateral (●).**

Sin embargo, al comparar nuestros datos con los del estudio ecográfico 3D de Vos y colaboradores en el año 2012 (30), todos los valores de las mediciones de las longitudes mediales se localizaban entre el percentil 5 y 50. Gráfica 6.

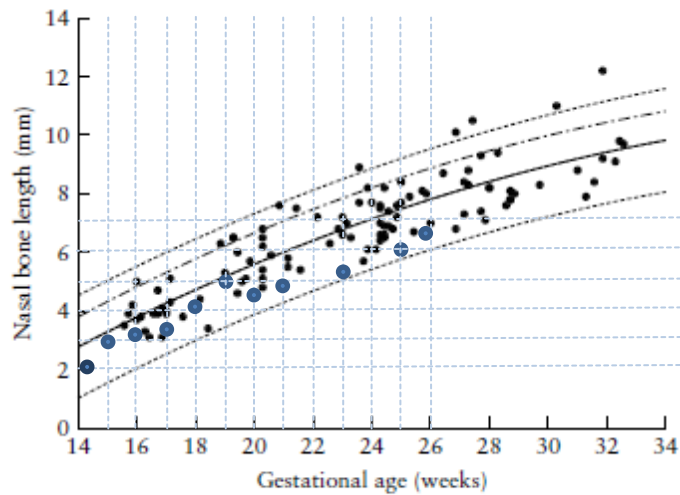
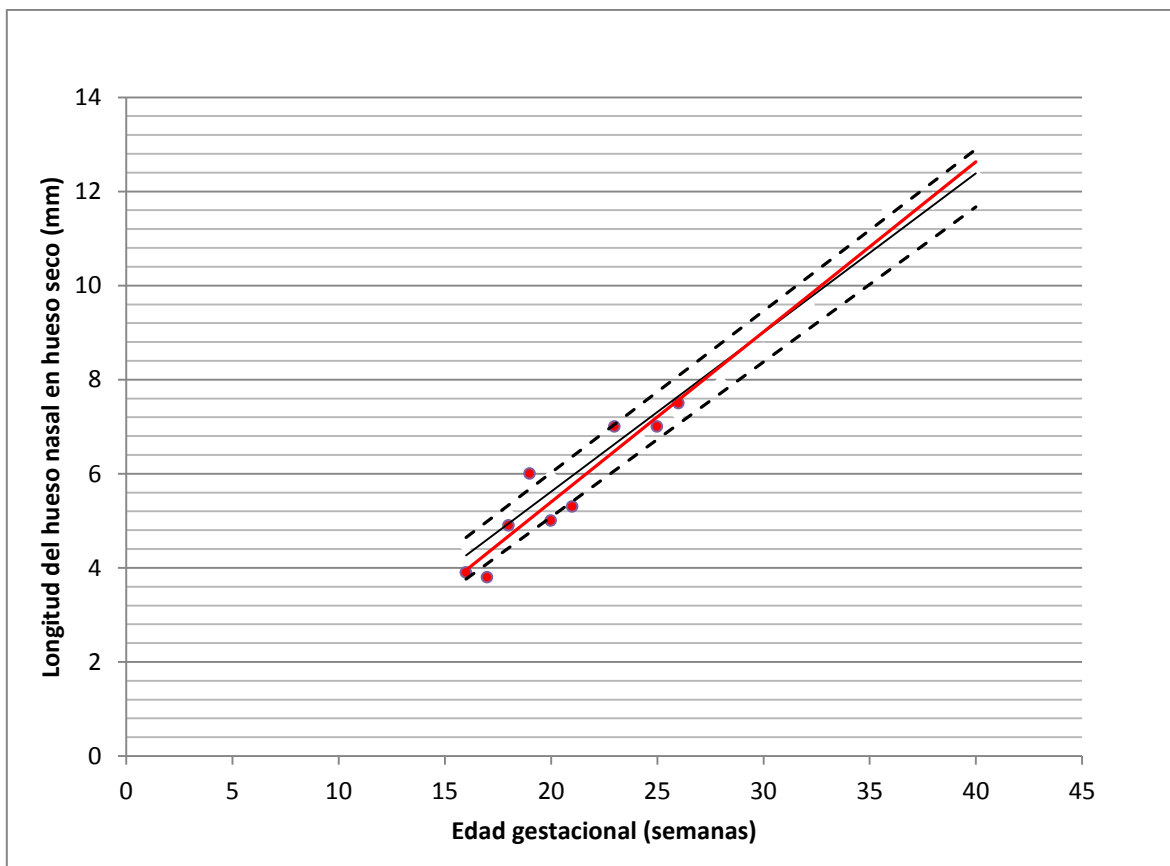


Figure 2 Scatterplot of nasal bone length (NBL) with mean (—) and 5<sup>th</sup> and 95<sup>th</sup> percentiles (----) in 109 healthy fetuses, showing mean NBL from reference range of Sonek *et al.*<sup>11</sup> (---).

Gráfica 6. Gráfica de dispersión de la longitud del hueso nasal tomada del estudio de Vos y colaboradores del año 2012 (30), con la media ( —) y percentiles 5 y 95 (----) en 109 sanos, se observa la media de la longitud del hueso nasal de los rangos de referencia de Sonek (---) y colaboradores del año 2003 (19). Las medias de nuestros datos de la longitud medial se representan como los círculos azules de mayor tamaño ( ● )

Al comparar nuestros datos de las medias de las longitudes laterales con el estudio antropológico de Fazekas y Koza de 1978 (15), se observó que muchas de nuestras medias estaban por fuera del rango establecidos en su estudio. Gráfica 7.



**Gráfica 7.** Representación en un dispersograma de los datos según el estudio antropológico de Fazekas y Koza (15) de las longitudes del hueso nasal seco, se ilustra la media ( —) y los rangos menores y mayores (----). Nuestros datos se representan como puntos rojos (●).

## Fetos anormales

El objetivo principal de este estudio fue estudiar el desarrollo y estandarizar el estudio histopatológico del hueso nasal fetal en los fetos normales, la meta es poder llevar a cabo el estudio histopatológico en casos que no cumplan con los criterios de anormalidad, en donde la valoración del hueso nasal aportaría información diagnóstica relevante, por lo que estudiamos de forma preliminar un total de 10 fetos anormales, cuyas características clínicas, ecográficas e histopatológicas se muestran en la tabla 2.



Caso	Cariotipo	Edad gestacional (semanas)	Hallazgos ecográficos	Hallazgos del estudio histopatológico
1	Trisomia 21	13	Higroma quístico	Higroma quístico
2	Trisomía 21	14	Translucencia nucal aumentada, regurgitación tricuspídea	Higroma quístico
3	Trisomía 21	20	Translucencia nucal aumentada	Clinodactilia del quinto dedo bilateral, sandal gap derecho
4	Trisomia 9	16	Translucencia nucal aumentada	Lobulación pulmonar y hepática anómala, malrotación intestinal, hipoplasia mandibular
5	Síndrome de Turner	14	Higroma quístico	Higroma quístico, micrognatia
6	Síndrome de Turner	19	Higroma quístico, hidrops fetal, corazón izquierdo hipoplásico	Higroma quístico
7	Euploide	14	Megavejiga	Ano imperforado, megavejiga
8	Euploide	16	Regurgitación tricuspídea, desviación radial bilateral	Ausencia bilateral del radio, ausencia de primer dedo en ambas manos
9	Euploide	16	Micrognatia, ductus venoso reverso, hidrops fetal	Hidrops fetal, higroma quístico, CIV
10	Euploide	18	Higroma quístico	Hidrops fetal, higroma quístico

**Tabla 2. Características clínicas, ecográficas e histopatológicas de los fetos anormales**

Las características histopatológicas del hueso nasal en los fetos anormales se ilustran en la tabla 3. Dentro de los fetos aneuploides, 3 corresponden a trisomía 21, 2 a síndrome de Turner y uno a un caso de trisomía 9.

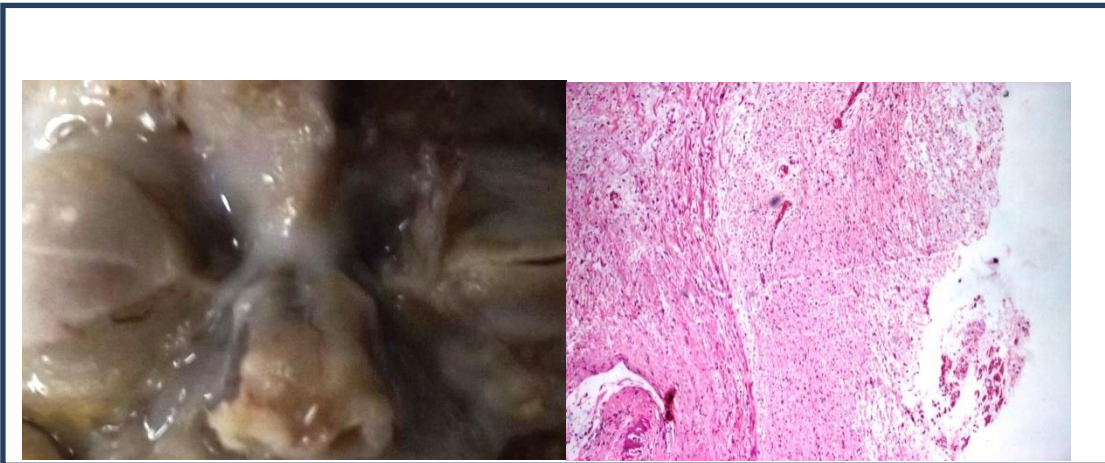
Dentro de los casos con trisomía 21, el hueso nasal estuvo ausente por el estudio ecográfico de la semana 11-14 en los tres casos, no fue posible visualizarlo en un caso por imposibilidad para diseccionar la piel, medible en un caso y en el caso restante estuvo macroscópicamente ausente, al examen histológico estuvo ausente en los casos de 14 y 20 semanas (**imagen 1**) y presente con un centro de osificación de 1mm en el caso de las 13 semanas(**Imagen 2**)

En los dos casos con síndrome de Turner (14 y 19 semanas) el hueso nasal estuvo presente tanto ecográficamente como histológicamente. El caso con trisomía 9 presentó hueso nasal ecográficamente e histológicamente. Dentro de los casos euploides pero con malformaciones, el hueso nasal estuvo presente por ecografía e histología en todos los casos aunque en el caso de 14 semanas midió sólo 1mm.

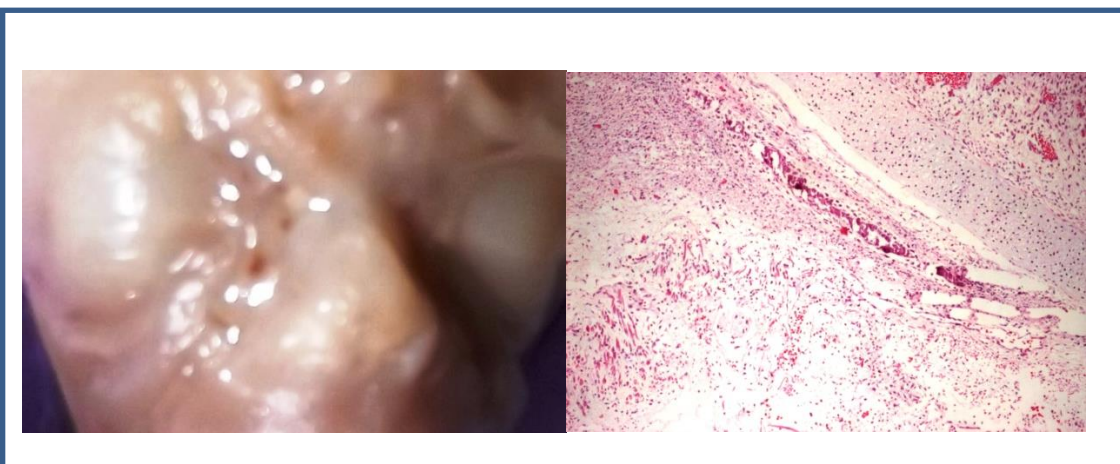
Caso	Cariotipo	Edad gestacional (semanas)	Puente nasal	Hueso nasal por estudio ecográfico	Examen macroscópico del hueso nasal	Hueso nasal por estudio histopatológico
1	Trisomía 21	13	Plano	Ausente	Difícil de visualizar y medir, longitud lateral de 2mm, longitud medial de 1mm	Presente, centro de osificación de 1mm
2	Trisomía 21	14	Plano	Ausente	No fue posible examinar ni medir	Ausente
3	Trisomía 21	20	Plano	Ausente	Ausente macroscópicamente	Ausente
4	Trisomía 9	16	Plano	Presente	Longitud lateral: 4,5mm, longitud medial: 4mm	Presente
5	Síndrome de Turner	14	Plano	Presente	Longitud lateral: 4mm, longitud medial: 3mm	Presente
6	Síndrome de Turner	19	Plano	Presente	Longitud lateral: 3mm, longitud medial: 2mm	Presente
7	Euploide	14	Plano	Presente	hueso no bien delimitado casi imperceptible, medición no confiable de 2mm	Presente, centro de osificación de 1mm
8	Euploide	16	Plano	Presente	Normal, longitud lateral: 4mm, longitud medial: 3,5mm	Presente
9	Euploide	16	Normal	Presente	Normal, longitud lateral: 5mm, longitud medial: 4mm	Presente
10	Euploide	18	plano	Presente	Normal, longitud lateral: 7mm, longitud medial: 5mm	Presente

**Tabla 3. Características histopatológicas del hueso nasal en los fetos anormales**

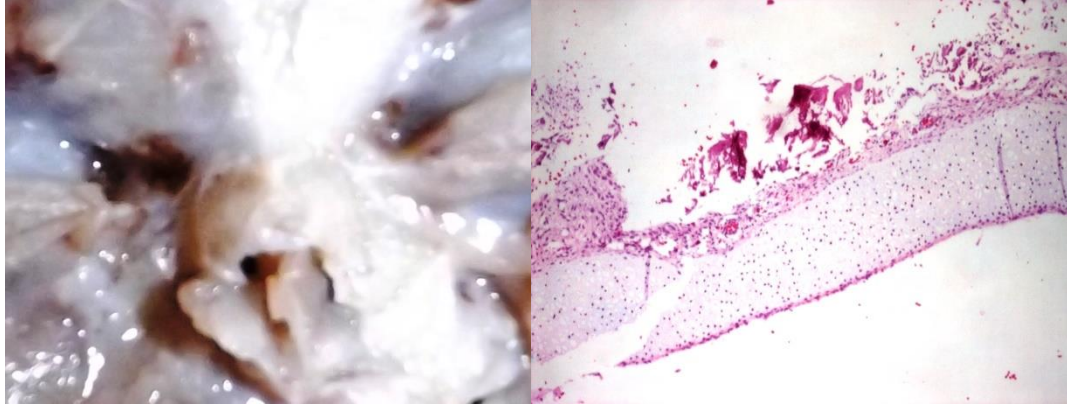
Al comparar las medidas obtenidas de la longitud lateral de los huesos nasales de los casos anormales con los estándares obtenidos del estudio de Sonek y colaboradores del año 2003 y con las medidas de nuestros casos normales, se observó que en todos los casos son trisomía 21 la medida del hueso nasal estuvo por debajo del percentil 2,5 (en dos casos ausente), igualmente en un caso con síndrome de Turner (**imagen 3**) y uno euploide con megavejiga y ano imperforado las medidas de las longitudes laterales estuvieron por debajo del percentil 2,5 para la edad gestacional. Gráfica 8.



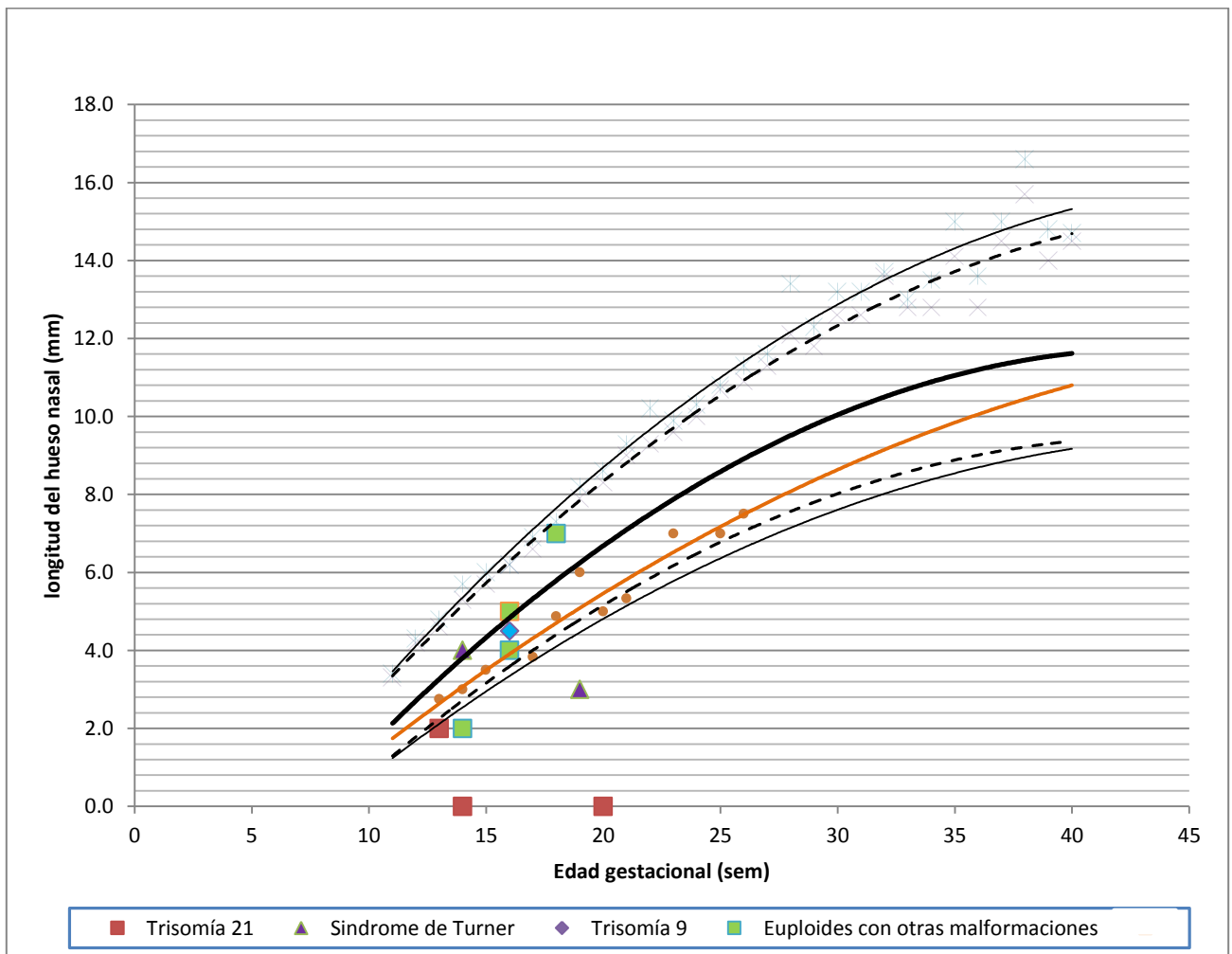
**Imagen 1. Feto con trisomía 21 de 20 semanas, con hueso nasal ausente por estudio ecográfico de la semana 11-14, ausente macroscópicamente e histológicamente. No se observan centros de osificación en el lugar donde debería estar.**



**Imagen 2. Feto con trisomía 21 de 13 semanas con centro de osificación de 1mm por histología, macroscópicamente el hueso nasal fue difícil de evaluar midiendo aparentemente 2mm, sin embargo el estudio ecográfico de la semana 11-14 no reveló el hueso nasal al momento de su realización. Este caso presentó además un higroma quístico a la evaluación ecográfica e histopatológica.**



**Imagen 3. Feto con síndrome de Turner de 19 semanas con hueso nasal medido macroscópicamente de 3mm, centro de osificación presente y presente ecográficamente, pero que para la edad gestacional se localizaría debajo del percentil 2,5 según el estudio de Sonek y colaboradores del 2003 (19).**



**Gráfica 8. Curva polinómica de segundo orden basada en los datos de Sonek y colaboradores en el año 2003 (19). Media ( —), percentiles 5 y 95 (----) y percentiles 2,5 y 97,5 ( →). Las medidas de la longitud lateral de los fetos normales se muestran como puntos naranjas (●), y la de los fetos anormales según la leyenda en la gráfica. Se observa que 5 fetos anormales se desviaron por debajo del percentil 2,5 y de la media de nuestro estudio.**

## **8. Discusión**

Hasta la fecha este es el primer estudio histomorfológico y antropométrico reportado en el cual se realiza una descripción macroscópica, microscópica y antropométrica del desarrollo del hueso nasal fetal en una población de fetos “normales”. Nuestros criterios de normalidad se ajustan a los criterios establecidos en los estudios imagenológicos hasta la fecha, en relación a la ausencia de malformaciones en el estudio ecográfico y un bajo riesgo de aneuploidías mediante el tamizaje ecográfico, sin embargo, en algunos de estos estudios también incluyen como criterio de normalidad un estudio citogenético normal y que la gestación haya transcurrido sin complicaciones o aborto durante el seguimiento. En relación con el primer criterio, en nuestro estudio ningún caso de los fetos normales fue sometido a estudio citogenético prenatal ya que, al tener un bajo riesgo de aneuploidía en el tamizaje ecográfico de la semana 11-14 y ausencia de malformaciones fetales por el estudio ecográfico no hubo indicación de pruebas diagnósticas invasivas.

En relación al segundo aspecto, además de las interrupciones voluntarias (no asociadas a complicaciones del embarazo) decidimos incluir abortos espontáneos, que no presentaron malformaciones al estudio ecográfico ni histopatológico con bajo riesgo de aneuploidía dentro del grupo de fetos normales; si bien hay que considerar que otras entidades, además de las aneuploidías trisomía 21, trisomía 18, trisomía 13 y síndrome de Turner (31) se asocian a ausencia o hipoplasia del hueso nasal, como la condrodisplasia punctata (32), síndrome de Apert (33), síndrome de Waardenburg (34, 35), síndrome de Marshall (35), trisomía 9 (31), síndrome de Lang (36), etc., sin embargo, además de ser muy poco frecuentes, en varios de estos casos la hipoplasia o ausencia del hueso nasal están asociadas a otras malformaciones fetales por lo que es improbable que en los fetos normales se hayan incluido erróneamente fetos con estas entidades.

La valoración del puente nasal por el anatomopatólogo es hecha actualmente de forma subjetiva y macroscópica y es muy común observar en los reportes de anatomía patológica la descripción de puente nasal fetal plano, por lo que quisimos determinar la asociación de esta valoración con las características del hueso nasal fetal (partiendo de la premisa que el puente nasal está formado por los dos huesos nasales y estos definen las características del puente nasal).

Dentro de los fetos normales, “puente nasal plano” fue descrito en 12 fetos (40%), con un rango de 13 -26 semanas, y todos estos fetos presentaron hueso nasal por ecografía y de suponer no hipoplásico, así que la hipoplasia o ausencia del hueso nasal no podría explicar en estos casos las características del puente nasal plano, como sí ocurriría en los casos con trisomía 21. Además de ausencia o hipoplasia del hueso nasal, un puente nasal plano podría ser explicado por un ángulo aumentado entre los dos huesos nasales con una medida mayor del ancho del puente nasal, la cual fue medida en este estudio y tampoco se asoció a la valoración macroscópica del puente nasal fetal ni a la edad gestacional.

Todos estos hallazgos llevan a concluir que la apreciación de un puente nasal plano aislado es un hallazgo común en las narices fetales, describiéndose comúnmente hasta en infantes y niños jóvenes (37), por lo que su hallazgo aislado no se asociaría a aneuploidías, no refleja hipoplasia o ausencia del hueso nasal, ni se relaciona al ancho de los huesos nasales.

Nosotros intentamos realizar una descripción morfológica del desarrollo del hueso nasal fetal a lo largo de la gestación en los fetos normales. Según la literatura, los centros de osificación de los huesos nasales aparecen histológicamente a partir de la semana 8 de gestación(13,14), mediante un proceso de osificación intramembranosa, en el cual el hueso es directamente formado del tejido mesenquimal. Los huesos planos del cráneo y de la cara, la mandíbula y la clavícula se desarrollan de esta manera (38). En nuestro estudio dentro de los fetos “normales”, el feto de menor edad gestacional fue de 12 semanas, por lo cual era de esperar que en todos estos casos se observaran centros de osificación.

Sólo el estudio de Sandikcioglu y colaboradores en el año 1994 (16), establece el estándar normal de desarrollo de los huesos nasales fetales por medición radiológica en radiografías laterales de bloques de tejidos medio sagitales faciales con toma de cortes histológicos en sólo 8 casos, en este estudio la edad gestacional más temprana en la cual los huesos nasales fueron detectados histológicamente fue de 10,9 semanas y el desarrollo del hueso nasal según este estudio corresponde al desarrollo del hueso nasal reportado en el nuestro, en relación con el cambio de su morfología y mediciones a lo largo de la gestación y con el crecimiento del hueso nasal en relación con la cápsula nasal cartilaginosa y el hueso frontal, nosotros además observamos la relación de los huesos nasales con el hueso maxilar en desarrollo y establecimos estas estructuras junto con el etmoides cartilaginoso como puntos de referencia para facilitar la orientación en el corte histológico, la cual puede ser muy difícil dependiendo de la orientación del tejido y el ángulo de corte llevando a falsas interpretaciones de la presencia o ausencia del hueso nasal.

Además en nuestro estudio también fue posible observar el aumento en longitud de los centros de osificación del hueso nasal a lo largo de la gestación y en algunos casos medirlo microscópicamente, sin embargo hay que tener en consideración que el plano de corte y la orientación del tejido influyen en la

visualización y la medición microscópica de los centros de osificación, por lo que una medición microscópica la evaluación del crecimiento fetal y la determinación de hipoplasia del hueso nasal no sería aconsejable.

En el estudio de Sandikcioglu y colaboradores (16) y en el nuestro se observó una curva de crecimiento lineal de la longitud del hueso nasal, sin embargo, no es posible llevar a cabo una comparación exacta entre ambas mediciones ya que en ese estudio los datos no son suministrados y el crecimiento del hueso nasal fue relacionado a la longitud corona-coxis, y no a la longitud plantar como en el nuestro. Además, hay que considerar que en el estudio de Sandikcioglu y colaboradores (16), no se menciona la realización de estudios ecográficos prenatales y la población normal fue elegida únicamente en base al parecer macroscópicamente normal y sin alteraciones del desarrollo.

En nuestro estudio determinamos que existe una relación lineal de crecimiento del hueso nasal con la edad gestacional, por lo que, la longitud del hueso nasal podría implementarse como un parámetro de evaluación del crecimiento fetal, no obstante, sólo estudiamos fetos hasta las 26 semanas, por lo que incluir más fetos de mayores edades gestacionales permitiría establecer si este patrón de crecimiento es mantenido hasta el tercer trimestre y hasta final de la gestación.

Al comparar nuestros valores con el estudio pionero antropológico de Fazekas y Koza de 1978 (15), los cuales midieron la longitud del hueso nasal en el hueso seco de restos fetales en Hungría, algunos de los valores de la longitud lateral del hueso nasal fetal en nuestro estudio no caen en los rangos establecidos para cada edad gestacional según ese estudio, sin embargo en este estudio antropológico, aunque se evidenció un crecimiento lineal del hueso nasal con la edad gestacional, la edad gestacional fue calculada basada en la longitud corona-talón y este estudio se basó en fetos naturalmente abortados por lo que no consideró la presencia o no de malformaciones congénitas o aneuploidías en dicha población de estudio, por el contrario, en nuestro estudio la edad gestacional fue calculada basada en la longitud plantar y los criterios de normalidad que establecimos pueden explicar en parte las diferencias entre ambos estudios, esto sin contar, que los aspectos técnicos relacionados con la medición, las diferencias biológicas o étnicas entre ambas poblaciones, entre otros aspectos. Además, en nuestro estudio fue posible llevar a cabo la medición macroscópica a partir de la semana 14 de gestación, en el estudio de Fazekas y Koza a partir de la 16, y ellos determinaron un rango de 2 semanas para cada media y rangos, por lo cual los datos no son totalmente comparables.

Si bien existen estudios ecográficos que han establecidos rangos de referencias para las longitudes de los huesos nasales entre las semanas 11-14 de gestación, los cuales muestran un incremento de dicha longitud con la edad gestacional (18, 19, 25, 39), en nuestro estudio no fue posible llevar a cabo la medición macroscópica del hueso nasal en todos los fetos antes de la semana 14 de gestación, principalmente debido a que, en fetos de edades gestacionales tan pequeñas (uno de 12 semanas y dos de 13 semanas) los centros de osificación,

aunque presentes microscópicamente no son lo suficientemente evidentes al ojo haciendo imposible su visualización y medición macroscópica.

Considerando además, que la medida del hueso nasal en el primer trimestre (semanas 11-14) no ha mostrado ser de beneficio para el tamizaje para trisomía 21 (26), y que fue nuestra medición morfológica antes de las 14 semanas no fue adecuada, la mejor forma de evaluación histopatológica del hueso nasal fetal antes de las 14 semanas sería la valoración microscópica mediante la cual se podría establecer únicamente la presencia o ausencia de los centros de osificación del hueso nasal.

Los rangos de referencia de las medidas del hueso nasal varían entre los diferentes estudios ecográficos de dos dimensiones (2D), lo cual podría deberse en parte a la inhabilidad de la ecografía 2D de confirmar que la nariz está en el plano medio sagital exacto (20). En el estudio ecográfico de Sonek y colaboradores en el año 2003 (19), se establecieron rangos de referencia normales para las medidas del hueso nasal a través de la gestación en 3537 embarazos, se observó que una curva polinomial de segundo orden llevó a un  $R^2$  de 0,77 y  $p < 0,0001$  y que la tasa de incremento del hueso nasal desacelera a medida que la gestación progresa, y al comparar nuestros datos con los obtenidos en este estudio se observó que la media para la longitud del borde lateral del hueso nasal de nuestro estudio se localizó entre el percentil 5 y 50 mientras que la longitud del borde medial estuvo por debajo del percentil 2,5, lo cual podría deberse a que en los estudios ecográficos 2D el plano evaluado (el plano sagital medio) evalúa la mayor longitud del hueso nasal que en el caso de nuestra medición morfológica correspondería a la longitud lateral del hueso nasal fetal.

Por otra parte, en relación con los estudios ecográficos 3D, en un estudio de Vos y colaboradores en el año 2012 (30), el hueso nasal fue medido en 109 fetos sanos, desde el nasion al extremo distal de la línea de osificación blanca, en este estudio el nasion fue definido como el punto más anterior en la unión entre el frontal y los huesos nasales, esta medición correspondería en nuestro caso a la longitud medial del hueso nasal, sin embargo en ese estudio los datos no estuvieron disponibles para comparar con los nuestros, por lo que empleamos su gráfica del crecimiento del hueso nasal en relación con la longitud del hueso nasal y ajustamos nuestras medias para cada edad gestacional y observamos que todos los valores de la longitud medial del hueso nasal se localizaban entre el percentil 50 y 5.

Muchos estudios han demostrado una alta tasa de asociación entre el hueso nasal ausente en las semanas 11-14 y trisomía 21, así como con otras anomalías cromosómicas. Un hueso nasal ausente ha sido reportado en el 1,2% de los fetos cromosómicamente normales (26), en nuestro estudio ningún caso que cumpliera los criterios de normalidad, es decir ausencia de malformaciones ecográficas o histopatológicas tuvo hueso nasal ausente por el estudio ecográfico ni por el estudio histopatológico, lo cual está de acuerdo con lo reportado por la literatura y



resalta la importancia de hallar ausencia del hueso nasal en el primer trimestre y en cualquier momento después para identificar los fetos normales más probablemente aneuploides. Sin embargo hay que considerar que la prevalencia de hueso nasal ausente es ligeramente mayor en poblaciones de origen africano que de origen blanco según ciertos estudios (5,8% versus 2,6%), lo cual tendría que ser tomado en cuenta para el cálculo de las razones de riesgo en el tamizaje de trisomía 21 (26).

Por el contrario, la ausencia del hueso nasal ha sido reportada en el 68,5% de los casos con trisomía 21, 55% de los fetos con trisomía 18, 35% de los fetos con trisomía 13 y 10% de los fetos con síndrome de Turner en el estudio ecográfico del primer trimestre (26), en nuestro estudio, los 3 casos con trisomía 21 presentaron hueso nasal ausente por estudio ecográfico de la semana 11-14, y estuvo presente en los otros casos aneuploides (trisomía 9 y síndrome de Turner) y los euploides con malformaciones. En dos de los casos con trisomía 21 el estudio histopatológico confirmó la ausencia del hueso nasal reportado por el estudio ecográfico, mientras que en un caso, el de 13 semanas, el estudio histopatológico reveló un foco microscópico de 1mm de centro de osificación del hueso nasal y además el hueso nasal pudo ser visualizado macroscópicamente.

A este respecto, en un estudio de Tuxen y colaboradores, en el año 2003 estudiaron en 33 fetos abortados con trisomía 21 entre 14-25 semanas, la presencia y longitud del hueso nasal fetal en radiografías de bloques de tejido medio sagital y lo correlacionaron con la histología. Ellos encontraron que 30% de los casos tenían ausencia unilateral o bilateral del hueso nasal. La histología confirmó la ausencia del hueso nasal por radiología en todos los casos donde esta se llevó a cabo y confirmó la presencia del hueso nasal en los 23 casos que tenían evidencia radiológica de formación de hueso nasal (28).

Por otra parte, en un estudio de Minderer y colaboradores en el año 2003 se comparó los hallazgos ecográficos prenatales del hueso nasal en 17 fetos con trisomía 21 (rango de edad gestacional de 11-14 semanas) con los hallazgos morfológicos para determinar si el hueso estaba realmente ausente. De los 17 casos, el hueso nasal fue ecográficamente evidente pero con hipoplasia severa en 10 casos, ausente en 6 y en el caso restante no fue posible identificarlo por la posición fetal. Por medio del estudio histológico el hueso nasal estuvo presente en 16 casos. Tras la revisión retrospectiva de las imágenes ecográficas se pudo identificar el hueso nasal en 5/6 casos en los cuales fueron inicialmente considerados ser ausentes (falso hallazgo de hueso nasal ausente que en realidad estaba presente pero hipoplásico) (29)

A este respecto, los resultados discordantes entre ambos estudios se deben principalmente a que en el estudio de Tuxen y colaboradores (28) emplearon una evaluación radiológica postmortem para la evaluación del hueso nasal lo que evidentemente lleva a que en todos los casos haya sido posible identificar el hueso nasal al estudio histológico llevado a cabo al mismo tiempo, mientras que en el estudio de Minderer y colaboradores (29), al emplear estudios ecográficos

prenatales y comparar con los hallazgos histológicos, la tasa de concordancia entre ambos estudios fue menor (de los 6 casos que no fue posible detectar hueso nasal por ecografía en 5 si hubo hueso nasal al estudio histológico) a este respecto, si se considera el tiempo transcurrido entre la ecografía y el estudio histológico, puede dársele tiempo para que el hueso nasal no detectado por el estudio ecográfico si sea detectado histológicamente, aunque sea hipoplásico sí puede estar presente, lo que explicaría en parte la ausencia e hipoplasia del hueso nasal como consecuencia de una osificación retrasada en los casos con trisomía 21. Tal vez esta es la explicación del porque en nuestro caso de 13 semanas con trisomía 21 el estudio macroscópico y microscópico si revelo un centro de osificación, en que el tiempo transcurrido fue de 20 días, aun así el hueso nasal fue hipoplásico para la edad gestacional al comparar con los datos de Sonek y colaboradores (debajo del percentil 2,5).

Por otra parte, en los fetos con trisomía 21 los huesos nasales ausentes podrían ser consecuencia además de un error del desarrollo esquelético ya que además estos fetos presentan otras anomalías esqueléticas como braquicefalia, hipoplasia de la falange media del quinto dedo y malformaciones del hueso palatino y el esqueleto axial (28).

En relación con la medida del hueso nasal a partir de las 14 semanas de gestación, la prevalencia de hueso nasal ausente e hipoplásico es del 60% en fetos con trisomía 21 y 1,4% en fetos euploides. El criterio para definir hipoplasia varía según los estudios: 1) una medida menor del percentil 2,5, 5 y 10 del rango normal de gestación, 2) medida por debajo de un corte fijo de 2,5mm o 3mm, 3) una razón sobre puntos de cortes específicos en la razón del diámetro biparietal a la razón de la longitud del hueso nasal fetal (26)

En nuestro estudio, el caso con trisomía 21 de 13 semanas, el caso con síndrome de Turner de 19 semanas y uno euploide con malformaciones de 14 semanas tuvieron una medida del hueso nasal debajo del percentil 2,5 para la edad gestacional, según el estudio de Sonek (19) y además, los tres midieron 3mm o menos, por lo que estos casos muestran que cualquiera de estos dos criterios ecográficos podría ser aplicado como punto de corte para considerar un hueso nasal hipoplásico, y por lo tanto, un feto anormal (ya sea aneuploide o con una alteración del desarrollo), hasta que rangos de referencia obtenidos de un gran número de fetos normales medidos antropométricamente estén disponibles.

De igual forma, más casos anormales, principalmente aneuploides deberían ser estudiados para evaluar el desarrollo del hueso nasal en estos casos y sus mediciones histomorfológicas con el fin de comparar con los estudios ecográficos en relación con la presencia o medida del hueso nasal y demás hallazgos ecográficos e histopatológicos.

## 9. Conclusiones

El conocimiento del desarrollo embriológico normal del hueso nasal, incluyendo sus medidas morfológicas y el patrón de crecimiento es importante para entender y evaluar el desarrollo craniofacial patológico y la patogénesis de muchas malformaciones craniofaciales congénitas en que esta estructura está involucrada. Además en el contexto de trisomía 21 y otras entidades asociadas a ausencia o hipoplasia del hueso nasal, el conocimiento de los estándares normales del hueso nasal permitiría la evaluación histopatológica del hueso nasal con el fin de identificar y sospechar la presencia de aneuploidías y otras entidades, en fetos abortados con genotipos desconocidos principalmente en el contexto de aquellos embarazos sin control prenatal ni estudios ecográficos. Finalmente, el estudio histopatológico del hueso nasal mejoraría de gran manera la información suministrada a la pareja en el ámbito de la consejería genética.

En relación con la estandarización del estudio histopatológico del hueso nasal fetal, varios puntos importantes para concluir son:

- La valoración macroscópica del puente nasal fetal por sí sola no se asocia a estados aneuploides, todos los fetos parecerán tener puente nasal plano al ojo del examinador.
- Antes de las 14 semanas, el estudio histológico microscópico podría ser la mejor forma del estudio del hueso nasal
- La medición morfológica antropométrica es posible y más confiable a partir de las 14 semanas de gestación
- A cualquier edad gestacional, la no visualización macroscópica del hueso nasal ameritaría tomar el corte histológico para corroborar su verdadera ausencia
- La fácil visualización del hueso nasal, más a partir de la 14 semanas haría innecesaria la toma del hueso nasal para análisis histológico, sólo la medición aportaría información
- Un bloque de tejido parasagital del hueso nasal con parte medial del hueso frontal y del cartílago nasal y con una profundidad de 2cms son suficientes para la orientación microscópica

## 10. Bibliografía

1. Nicolaides KH. Screening for fetal aneuploidies at 11 to 13 weeks. *PrenatDiagn.* 2011;31(1):7-15. doi: 10.1002/pd.2637
2. Textbook of Perinatal Medicine. AsimKurjak, Frank A. Chervenak. Segunda Edición. CRC Press, 2006, 2304 páginas.
3. Cicero S, Curcio P, Papageorghiou A, Sonek J, Nicolaides K. Absence of nasal bone in fetuses with trisomy 21 at 11-14 weeks of gestation: an observational study. *Lancet.* 2001; 358(9294):1665-7.
4. Malone F, D'Alton ME; Society for Maternal-Fetal Medicine. First-trimester Sonographic Screening for Down Syndrome. *Obstet Gynecol.* 2003; 102 (5 Pt 1): 1066-79
- 5: Suwanrath C, Pruksanusak N, Kor-Anantakul O, Suntharasaj T, Hanprasertpong T, Pranpanus S. Reliability of fetal nasal bone length measurement at 11-14 weeks of gestation *BMC Pregnancy Childbirth.* 2013;13:7. doi: 10.1186/1471-2393-13-7.
- 6: Kanellopoulos V, Katsetos C, Economides DL: Examination of fetal nasal bone and repeatability of measurement in early pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2003, 22:131-4.
- 7: Bekker MN, Twisk JW, van Vugt JM: Reproducibility of the fetal nasal bone length measurement. *J Ultrasound Med* 2004, 23:1613-8.
- 8: Cicero S, Dezerega V, Andrade E, Scheier M, Nicolaides KH: Learning curve for sonographic examination of the fetal nasal bone at 11-14 weeks. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003, 22:135-7.
9. Kagan KO, Cicero S, Staboulidou I, Wright D, Nicolaides KH. Fetal nasal bone in screening for trisomies 21, 18 and 13 and Turner syndrome at 11-13 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009; 33(3):259-64. doi: 10.1002/uog.6318.
10. Lagman's medical embryology. Sadler, T.W. 12th edición. Lippicott Williams & Williams, 2012, 384 páginas
11. The Developing Human: Clinically Oriented Embryology. Keith L. Moore, T. V. N. Persaud, Mark G. Torchia. 8 edición. Saunders/Elsevier, 2008, 522 páginas.
12. Craniofacial Development, Geoffrey H. Sperber, Geoffrey D. Guttmann, Steven M. Sperber, PMPH-USA, 2001, 220 páginas
13. Developmental Juvenile Osteology. Louise Scheuer, Sue Black, Academic Press, 2000, 587 páginas.
14. The Juvenile Skeleton. Louise Scheuer, Sue Black. Academic Press, 2004. 400 páginas.

15. Developmental Juvenile Osteology, Maureen Schaefer, Louise Scheuer, Sue Black, Elsevier, 2009, 369 páginas.
16. Sandikcioglu M, Mølsted K, Kjaer I. The prenatal development of the human nasal and vomeral bones. *J Craniofac Genet Dev Biol.* 1994;14(2):124-34.
17. Guis F, Ville Y, Vincent Y, Doumerc S, Pons JC, Frydman R. Ultrasound evaluation of the length of the fetal nasal bones through gestation. *Ultrasound ObstetGynecol* 1995; 5:304–7
18. Cossi PS, Araujo Júnior E, Bussamra LC, Antonio H. Filho G, Marcondes L, Nardozza M, Moron AF. Measurement of fetal nasal bone length in the period between 11 and 15 gestational weeks in a Brazilian population: a preliminary study. *Radiol Bras [online].* 2008;41(3). 155-8
19. Sonek JD, McKenna D, Webb D, Croom C, Nicolaides K. Nasal bone length throughout gestation: normal ranges based on 3537 fetal ultrasound measurements. *Ultrasound ObstetGynecol.* 2003;21(2):152-5
20. Persico N, Molina F, Borenstein M, Azumendi G, Nicolaides KN. Nasal-bone length in euploid fetuses at 16-24 weeks' gestation by three-dimensional ultrasound. *Ultrasound ObstetGynecol* 2010; 36: 285-90.
21. Stempfle N, Hutten Y, Fredouille C, Brisse H, Nessmann C. Skeletal abnormalities in fetuses with Down's syndrome: a radiographic post-mortem study. *PediatrRadiol.* 1999;29(9):682-8.
22. Hansen L, Skovgaard LT, Nolting D, Hansen BF, Kjaer I. Human prenatal nasal bone lengths: normal standards and length values in fetuses with cleft lip and cleft palate. *Cleft Palate Craniofac J.* 2005;42(2):165-70.
23. R. G. Mentz, U. Engel I. Kjær, Nasal bone length in trisomy 18, triploidy and Turner syndrome analyzed on postmortem radiographs. *Letter to the Editor.* 2009; 34 (5), 607–8.
24. Cicero S, Bindra R, Rembouskos G, Tripsanas C, Nicolaides KH. Fetal nasal bone length in chromosomally normal and abnormal fetuses at 11-14 weeks of gestation, *J Maternal Fetal Neonatal Med.* 2002; 11 (6):400-2.
25. Orlandi F, Bilardo CM, Campogrande M, Krantz D, Hallahan T, Rossi C, Viora E. Measurement of nasal bone length at 11-14 weeks of pregnancy and its potential role in Down syndrome risk assessment. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2003;22(1):36-9.
26. Sonek JD, Cicero S, Neiger R, Nicolaides KH. Nasal bone assessment in prenatal screening for the trisomy 21. *American journal of Obstetrics and Gynecology.* 2006; 195: 1219-30

27. Bunduki V, Ruano R, Miguelez J, Yoshizaki CT, Kahhale S, Zugaib M. Fetal nasal bone length: reference range and clinical application in ultrasound screening for trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2003;21(2):156-60.
28. Tuxen A, Keeling JW, Reintoft I, Fischer Hansen B, Nolting D, Kjaer I. A histological and radiological investigation of the nasal bone in fetuses with Down syndrome. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2003;22(1):22-6.
29. Minderer S, Gloning KP, Henrich W, Stöger H. The nasal bone in fetuses with trisomy 21: sonographic versus pathomorphological findings. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2003;22(1):16-21.
30. Vos FI, de Jong-Pleij EAP, Ribbert LSM, Tromp E, Bilardo CM. Three-dimensional ultrasound imaging and measurement of nasal bone length, prenasal thickness and frontomaxillary facial angle. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2012; 39; 636-41.
31. Zoppi MA, Ibba RM, Axiana C, Floris M, Manca F, Monni G. Absence of fetal nasal bone and aneuploidies at first-trimester nuchal translucency screening in unselected pregnancies. *Prenat Diagn.* 2003 Jun;23(6):496-500.
32. da Silva Figueirêdo S, de Araújo J, Marini Kozan J, Lima dos Santos N, Tanganeli V. Rhizomelic chondrodysplasia punctata: a case report and brief literature review. *Radiol Bras.* 2007; 40 (1):69-72
33. Wang Y, Xiao R, Yang F, Karim BO, Iacovelli AJ, Cai J, Lerner CP, Richtsmeier JT, Leszl JM, Hill CA, Yu K, Ornitz DM, Elisseeff J, Huso DL, Jabs EW. Abnormalities in cartilage and bone development in the Apert syndrome FGFR2(+/-S252W) mouse. *Development.* 2005 ;132(15):3537-48.
34. da-Silva EO, Batista JE, Medeiros MA, Fonteles SM. Craniofacial anthropometric studies in Waardenburg syndrome type I. *Clin Genet.* 1993;44(1):20-5.
35. Hereditary hearing loss and its síndromes. Helga V. Toriello, Shelley D. Smith, Third edition. Oxford University Press, 2013, 756 páginas
36. Dinah M. Clark, Ilana Sherer, Matthew A. Deardorff, Janice L.B. Byrne, Kathleen M. Loomes, Malgorzata J.M. Nowaczyk, Laird G. Jackson, Ian D. Krantz Prenatal Profile of Cornelia de Lange Syndrome (CdLS): A Review of 53 Pregnancies. *Am J Med Genet A.* 2012; 158A(8): 1848–56.
37. Handbook of physical measurements. Judith G. Hall, Judith E. Allanson, Karen W. Gripp, Anne M. Slavotinek. Oxford University Press. Tercera edition. 2013, 400 páginas.

38. Textbook of craniofacial growth. Sridhar Premkumar. Jaypee Brothers Medical Publishers. Primera edición. 2011. 377 páginas

39. Moon MH, Cho JY, Lee YM, et al, Nasal bone length at 11-14 weeks of pregnancy in the Korean population. PrenatDiagn. 2006; 26:524-7